Université de Paris
École sup^re de Pharmacie

Concours pour le prix Gobley
1897

Recherches sur la nutrition des Végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique

(Amines et alcaloïdes.)



par

L. Lutz,

Pharmacien de 1re Classe. Licencié ès sciences naturelles,
Préparateur à l'École sup^re de Pharmacie (micrographie)
Vice-Secrétaire de la Société botanique de France,
etc.

ÉCOLE SUPÉRIEURE
DE
PHARMACIE
DE
PARIS

Laboratoire de Micrographie

Paris, le 28 Juin 1897

Monsieur le Directeur
de l'École Supre de Pharmacie,

J'ai l'honneur de solliciter de votre haute bienveillance l'autorisation de concourir pour le prix Gobley (1897), et à cet effet je dépose au Secrétariat un mémoire intitulé:
« Recherches sur la nutrition des

« végétaux à l'aide de substances azotées
« de nature organique, (amines et al-
« caloïdes. »

Veuillez je vous prie Monsieur le
Directeur, agréer l'assurance de mes
sentiments respectueux & dévoués.

L. Lutz

Préparateur de micrographie.

Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique. (Amines et alcaloïdes).

Introduction.

Parmi les questions de physiologie végétale qui ont occupé au plus haut point l'attention des savants, celle de la nutrition azotée des différentes plantes, supérieures ou inférieures, tient une place des plus importantes.

Nombre d'auteurs ont dirigé leurs recherches vers la question si complexe de l'assimilation de l'azote, mais la plupart des travaux ne visent que les deux ordres de faits suivants:

1° Fixation de l'azote provenant des nitrates;

2° Fixation directe de l'azote atmosphérique, soit par les plantes, soit par les microorganismes, soit par le sol.

Dans ce dernier ordre d'idées, je mentionnerai d'une façon toute spéciale, outre les mémoires de Boussingault (1) et de Georges Ville (2) qui ont ouvert la question, les belles recherches de M. Berthelot (3) sur la fixation de l'azote par la terre végétale, dans lesquelles l'auteur constate que cette fixation n'a lieu que par suite d'une action microbienne.

Ces travaux ont ouvert une voie nouvelle dans laquelle se sont succédées les recherches de Hellriegel (4), Hellriegel et

---

1. – Boussingault. – Ann. Ch. (2), t. LXVIII, 1838, p. 5. – id. (3), t. XLI, p. 5. – id. (3) t. XLIII, p. 149. – Agronomie, t. I, p. 283.
2. – Georges Ville. – Recherches expérimentales sur la végétation, Paris, 1853. – CR, t. XXXI, p. 578 id. t. XXXV, pp. 464, 650. – id. t. XXXVIII, pp. 705, 723. – Ann. Ch. (3), t. XLIX, p. 168.
3. – Berthelot. – Sur la fixation de l'azote atmosphérique sur la terre végétale, Ann. Ch. (6) t. XIII, p. 5. – Ann. Ch. (6), t. XIV, p. 473.
4. – Hellriegel. – Landw. Versuchs-stat., t. XXXIII, p. 464.

Willfarth (1), Lawes et Gilbert (2), Frank (3), Berthelot (4), Schlœsing fils et Laurent (5), Winogradsky (6), Noble et Hiltner (7).

La résultante de ces divers mémoires est ce fait, actuellement hors de doute, que l'azote libre peut être directement fixé par certaines plantes, particulièrement par les légumineuses, mais seulement avec le concours d'une action microbienne. Il en résulte également que les microorganismes peuvent être les agents de la fixation de l'azote atmosphérique sur le sol lui-même.

La constatation de ces divers faits présente une importance capitale, car elle rend compte des précautions à observer pour faire une culture de plantes en vue d'y étudier l'assimilation de l'azote, si l'on veut se mettre à l'abri des causes d'erreur.

D'autre part les travaux de Bréal (8), Frank (9), Schlœsing fils et Laurent (10), Kossovitch (11), Koch et Kossowitch (12), montrent que les Algues peuvent aussi opérer une fixation d'azote, mais seulement lorsqu'elles vivent en symbiose avec certaines bactéries du sol.

Il y a donc là encore un écueil à éviter dans les cultures.

— Quant à l'étude de la nutrition des végétaux à l'aide de matériaux azotés puisés dans le sol, le nombre des mémoires est très important, mais la plupart ne s'occupent que de l'azote minéral.

La nutrition à l'aide de substances organiques n'a donné lieu qu'à un petit nombre de travaux parmi lesquels il convient de signaler les suivants :

Georges Ville (13) remarque que les végétaux peuvent assimiler les chlor-

---

1. — Hellriegel et Willfarth. — Beilageschrift zu der Zeitschrift des Vereins f. d. Rübenzucker-industrie, 9re 1888, p. 234.
2. — Lawes et Gilbert. — Jahresb. f. agrik. Chem. t VIII p. 25. — Proceed. Roy. Society, t. XLVII, 1890, p. 85.
3. — Frank. — Recherches sur la nutrition azotée des plantes ; Landw. Jahrb. t XVII, 1888, p. 24.
4. — Berthelot. — Ann. Ch. (6), t XIII, p. 453. — Ibid. (6) t. XXX, p. 441.
5. — Schlœsing fils et Laurent. — Ann. Institut Pasteur t. VI, p. 65.
6. — Winogradsky. — C.R. t CXVI, p. 1385. — Ibid., ~~[illegible]~~ t. CXVIII, p. 355. — Arch. Soc. biol. St Pétersbourg t III, 1895, n° 4 —
7. — Noble et Hiltner. — Landw. Versuchsst. t XLV, p. 155.
8. — Bréal. — Observations sur les Algues d'eau douce ; An. agr. 1886, 12, p. 317.
9. — Frank — Jahresb. f. Agr. Chem., t. XII, p. 49.
10. — Schlœsing fils et Laurent. — An. Inst. Pasteur, t. VI, p. 824.
11. — Kossowitch. — Bot. Zg. 1892, 43, 47. — Untersuch. über die Frage ob die Algen ~~[illegible]~~ Stickstoff fixiren, Bot. Zg., 1894, 97.
12. — Koch et Kossowitch — Bot. Zg. 1893, N° 21 p. 321
13. — G. Ville. — Définir par la végétation l'état moléculaire des corps, C.R. t LIII, p. 464

hydrates d'éthylamine et de méthylamine qui, à quantité égale d'azote produiraient sur la végétation autant d'effet que le chlorhydrate d'ammoniaque. Mais les expériences de Ville ont été effectuées à une époque où l'industrie n'avait pas réussi à préparer à l'état de pureté absolue les produits qu'il employait, et d'autre part, on ne connaissait que d'une manière fort imparfaite le rôle des microorganismes, contre lesquels il n'a pris aucune mesure. Ces expériences ne présentent donc pas la rigueur scientifique nécessaire.

Frank (1) s'occupe de la nutrition à l'aide de l'urée, de l'acide urique, de l'acide hippurique, du glycocolle, de la créatine, de la leucine, de la tyrosine, de la guanine, de l'asparagine et de certains alcaloïdes. Il constate en particulier que ces derniers substances ne sont pas assimilables.

A part ces quelques observations, on s'accordait, jusqu'à ces dernières années, à admettre que, pour que l'assimilation des substances azotées organiques ait lieu, il fallait que ces substances subissent au préalable une série de fermentations ayant pour effet de les transformer d'abord en sels ammoniacaux (fermentation ammoniacale), lesquels étaient à leur tour transformés par le ferment nitrique en nitrates directement assimilables.

Ce n'est que très récemment que M. Müntz (2) constata que les sels ammoniacaux pouvaient être directement assimilés par la plante sans avoir besoin de subir une nitrification préalable.

Tel était l'état de la question lorsque je résolus de rechercher si les composés organiques formant la classe des amines et celle des alcaloïdes étaient susceptibles d'être assimilés par les plantes, et si leur assimilation pouvait avoir lieu directement, sans fermentation préalable, ainsi que M. Müntz l'avait constaté pour les sels ammoniacaux.

---

1. – Frank. – La statistique de l'azote en agriculture, Landw. Jahrb. 1888 p. 421; trad. compl. dans Ann. sc. agr. française et étrang. 1888, 2e sem. p. 24.
2. – Müntz. – Sur le rôle de l'ammoniaque dans la nutrition des végétaux. – C.R. t. CIX, p. 646.

Chapitre 1er.

Nutrition des Phanérogames.

Expériences préliminaires.

Dans ces expériences préliminaires, je me suis proposé de chercher si, dans les conditions ordinaires de culture, les plantes étaient susceptibles de puiser leur azote dans les substances organiques appartenant au groupe des amines puis de chercher si ces substances avaient subi une transformation précédant leur absorption.

Je me réservais, au cas où ces premières expériences me donneraient des résultats positifs, d'instituer des expériences définitives, en prenant des précautions spéciales, en vue de me mettre à l'abri de toute action microbienne soit fixatrice d'azote, soit productrice de fermentations.

1re Expérience.

Cette première expérience a été exécutée à l'aide de semences de Cucurbita maxima que je me suis proposé de faire germer dans un sol contenant de l'azote à l'état de sel de triméthylamine.
Cette dernière substance m'a été gracieusement offerte par mon excellent ami Délépine à l'état chimiquement pur et bien exempt d'ammoniaque ~~et~~ des autres méthylamines. On sait, depuis les travaux de Délépine, que l'aldéhyde formique constitue un moyen aussi élégant que rapide et précis d'arriver à ce résultat.

Les semences de Cucurbita ont été triées et échantillonnées soigneusement, puis divisées en deux lots, l'un réservé pour l'analyse, l'autre pour la culture.

Les graines de ce dernier lot ont été plantées dans du sable siliceux, lavé et calciné au moment de l'expérience, et contenant

dans un pot également calciné. Le sable a été humecté avec le liquide suivant, modification de l'engrais proposé par M. Gérard (de …)

Biphosphate d'ammoniaque	2	Sulfate de magnésie	0,50
Chlorure de potassium	0,25	— id — de manganèse	0,10
Sulfate de chaux	0,50	Chlorhydrate de triméthylamine	3
— id — de fer	0,50	Eau distillée (exempte d'ammoniaque)	1000.

— L'autre lot a été séché à l'étuve, puis pesé et analysé.

Le poids moyen d'une graine a été trouvé de 0g. 137 milligr.

- Dosage de l'Azote total contenu dans une graine avant la germination. —

Ce dosage a été effectué par la méthode de Dumas.

Plusieurs graines, séchées à l'étuve, ont été pulvérisées soigneusement. Après séjour à l'exsiccateur elles ont été analysées.

Poids de substance prélevé — 170 mgr.

Vol. de l'Az recueilli — 11 cc. 0

$t = 21°5$. Pression atm. 765 m/m.

Par suite le poids de l'Azote est de

$$p = \frac{11(765 - 17{,}40)}{760(1 + 0{,}00367 \times 21{,}5)} \times 0{,}001263 = 12 \text{mgr } 8$$

Ce qui fait pour une graine pesant sèche 137 mgr :

$$P = \frac{12{,}8 \times 137}{170} = \underline{10 \text{ mg } 3}.$$

—— Le lot de graines, plantées dans le sable le … Mai 1896, a commencé à germer le 3 Juin. L'humidité du sable a été entretenue uniquement à l'aide de la solution nutritive ci-dessus.

Le 2 Juillet il est prélevé un échantillon moyen des plantes qui sont séchées à l'étuve, puis analysées.

a. — Le poids moyen d'une plante sèche a été trouvé de 0g. 350 mgr.

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain de 0,350 — 0,137 = 0g. 213 mgr.

b. — Dosage de l'Azote total contenu dans une plante. —

Le lot de plantes prélevées est séché et pulvérisé. Un échantillon de cette poudre essayé par la méthode de Dumas a donné les résultats suivants :

Poids de substance prélevé . . . . . . 172 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli 8cc. 0
$t = 23°$ Pression atm. 765 mm.
D'où le poids de l'Azote :

$$p = \frac{8(765 - 20)}{760(1 + 0{,}00367 \times 23)} \times 0{,}001263 = 9 \text{ mgr } 35$$

Ce qui fait pour une plante moyenne pesant sèche 350 mgr.

$$P = \frac{9.35 \times 350}{172} = 18 \text{ mgr } 9.$$

Soit un gain d'Azote total de 18,9 − 10.3 = 8 mgr 6.

La plante avait donc emprunté au substratum une certaine quantité d'azote qui selon toute probabilité devait provenir du sel de triméthylamine.

— Il s'agissait alors de savoir si ce gain d'azote était dû réellement à de l'azote assimilé ou bien s'il n'était dû qu'à des matériaux azotés simplement interposés mécaniquement dans les tissus.

Pour résoudre cette question j'ai disposé un poids déterminé de poudre de plantes sur un entonnoir taré dont la douille était garnie de coton de verre. J'ai épuisé la poudre à l'eau bouillante, puis l'entonnoir a été essoré à la trompe et séché à l'étuve, puis finalement pesé.

Poids de l'entonnoir et du coton de verre	11 g. 000
— de la poudre mise en expérience	0 g. 310
— total de l'entonnoir et de la poudre	11 g. 310
— de l'entonnoir et de la poudre après lavage et dessiccation	11 g. 176
Perte	0 g. 134

Le résidu de poudre resté dans l'entonnoir, soit 176 mgr a été analysé par la méthode de Dumas.

Poids de substance prélevé . . 0 g. 083
Vol. de l'Azote 4cc. 5
$t = 23°$ Pression atm. = 755 mm.
D'où le poids de l'azote :

$$p = \frac{4.5(755 - 21.08)}{760(1 + 0{,}00367 \times 23)} \times 0{,}001263 = 5 \text{ mgr } 26$$

Ce qui fait pour la totalité de la poudre analysée (176 mgr.):

$$P = \frac{L.26 \times 176}{83} = 11\text{ mgr } 15$$

Ceci revient à dire que le poids primitif de poudre non épuisée par l'eau, soit 310 mgr. contenait précisément ce poids (11mg. 15) d'azote à l'état de combinaison insoluble.

Par suite une plante pesant 0g. 350 mgr. contient

$$\frac{11,15 \times 350}{310} = 12\text{mg }6$$

d'azote à l'état de combinaison insoluble.

Ce poids excède encore de $12.6 - 10.3 = 2\text{mg }3$ le poids de l'azote total d'une graine. Il y a donc bien eu gain d'azote assimilé.

2e Expérience. –

Cette première expérience ayant donné des résultats positifs en ce qui concerne l'absorption de la triméthylamine par les plantes et leur faculté d'y végéter, j'ai entrepris une seconde expérience dans le but de préciser cette absorption et d'élucider la forme sous laquelle la triméthylamine était assimilée.

Le problème multiple à résoudre était celui-ci :

1° La plante gagne-t-elle de l'azote ?

2° S'il y a gain d'azote, la quantité de ce gaz fixée à l'état de combinaison azotée organique par la plante est-elle simplement due à une interposition mécanique de triméthylamine dans les tissus, autrement dit y a-t-il dans les tissus de la plante une quantité de triméthylamine moindre que celle nécessaire pour représenter la totalité du gain d'azote ?

3° Y a-t-il eu nitrification du sel de triméthylamine dans le substratum antérieurement à son absorption ?

4° Y a-t-il eu formation préalable de nitrates dans les tissus mêmes de la plante aux dépens du sel organique, autrement dit la plante est-elle capable par ses propres moyens de transformer l'azote aminé en azote nitrique ?

5° Les sels employés ont-il subi une fermentation ammoniacale

dans le sol, et par suite étaient-ils transformés en sels ammoniacaux avant leur absorption par la plante ?

Pour étudier ces diverses questions j'ai repris un certain nombre de graines de Cucurbita maxima provenant du même lot que celles employées pour la première expérience et je les ai mises en expérience de la façon suivante :

— <u>Un premier lot</u> a été planté dans du sable siliceux lavé puis calciné au rouge au moment de l'expérience et contenu dans un pot également calciné au rouge, puis refroidis à l'abri de l'air.

Le sable est additionné d'un engrais composé d'après les formules suivantes :

a. — Solution mère ne contenant pas d'azote. (1)

Biphosphate de potasse	8	Sulfate de magnésie	2
Chlorure de potassium	1	Sulfate de manganèse	0.40
Sulfate de Chaux	2	Eau distillée (bien exempte d'ammoniaque)	1400
Sulfate de fer	25		"

b. — Engrais employé :

Solution mère ci-dessus —— 25cc ;

Chlorhydrate de triméthylamine pur 0g. 25.

Le pot est placé sur une table, près d'une fenêtre, à la température ordinaire, et l'humidité est entretenue à l'aide d'eau distillée bien exempte d'ammoniaque.

— <u>Un deuxième lot</u> a été traité de la façon suivante, afin d'éviter l'action des ferments nitrique & ammoniacal, au cas où ils auraient pu être apportés par l'atmosphère ou même par les graines :

Les graines, lavées soigneusement ~~à~~ ~~eau~~ l'eau distillée, ont été immergées pendant 5 minutes dans une solution aqueuse

---

1. — Cette solution mère est une modification de l'engrais complet proposé pour les plantes par M. Gérard, de Lyon. — Elle diffère de la formule de l'auteur par l'absence de l'azote et par sa plus grande concentration.

de sublimé à 1/2000 puis plantés tout humides dans du sable calciné avec les précautions indiquées plus haut. Ce sable était renfermé dans un cristallisoir de verre, préalablement lavé au sublimé, et le tout est placé dans une étuve neuve, passée entièrement au sublimé à l'intérieur. Cette étuve est maintenue à la température ordinaire. Date de l'ensemencement : 22 juillet 1896.

La germination, dans les deux cas, s'est effectuée dans de très bonnes conditions, et le 6 août j'ai ajouté, par voie d'arrosage, dans chacun des pots 0g. 10 de Chlorhydrate de triméthylamine.

Le 18 Août deux plantes de chaque pot sont prélevées, séchées à l'étuve, pesées et analysées.

a. — Plantes ayant poussé à l'air libre, sans traitement préalable par le sublimé.

Poids des deux plantes sèches : — 0g. 317

Soit l'une $\frac{0,317}{2} = 158$ mgr. 5

Ceci représente sur le poids sec de la graine un gain de

$158,5 - 137 = 21$ mgr 5.

Dosage de l'Azote total (Méthode de Dumas).

Poids de substance prélevé — 133 mgr

Vol. de l'Azote — 9cc0

$t = 22$ — Pression atm. 755 m/m.

D'où s'en suit le poids d'azote :

$$p = \frac{9 \cdot (755 - 19.8)}{760 (1 + 0,00367 \times 22)} \times 0,001253 = 10 \text{ mgr } 2$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 158 mg 5

$$P = \frac{10,2 \times 158,5}{133} = 12 \text{ mg } 15.$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de

$12,15 - 10,3 = 1$ mg 85.

b. — Plantes ayant poussé dans l'étuve et après traitement préalable au sublimé.

Poids des deux plantes sèches — 0g. 485

Soit l'une $\frac{485}{2} = 242$ mg 5.

Ceci représente par rapport au poids sec de la graine un gain de

242,5 – 137 = 105 mgr. 5

Dosage de l'Azote total. (Méthode de Dumas.)

Poids de substance employé – —— 172 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli – – – – – 13 cc. 1

$t = 22$ Pression atm. = 755 m/m

D'où le poids d'Azote:

$$p = \frac{13.1(755 - 19.8)}{760(1+0.00367 \times 22)} \times 0,001263 = 14 \text{ mgr. } 7$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 242 mgr. 5

$$P = \frac{14.7 \times 242.5}{172} = 20 \text{ mgr. } 7$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de

20.7 – 10,3 = 10 mgr. 4 par plante.

– Les plantes contenaient-elles dans leurs tissus de l'azote nitrique?

Pour résoudre cette question, j'ai prélevé un échantillon de la poudre des plantes de chacun des deux lots. Cet échantillon a été épuisé par l'eau bouillante et le tout jeté sur un filtre Berzélius lavé longuement à l'eau distillée et essoré à la trompe.

Le liquide filtré est ensuite essayé par la méthode de Schloesing pour le dosage de l'azote nitrique à l'état de bioxyde d'azote.

Les poids essayés ont été de:

140 mgr. pour le lot ayant poussé à l'air libre et de

302 mgr. pour le lot ayant poussé dans l'étuve.

Il a été dans les deux cas recueilli 30 cc. de colature qui ont été analysés.

Dans aucun des deux cas il ne s'est dégagé la moindre trace de bioxyde d'azote.

Donc il n'y avait dans les plantes aucune trace d'azote nitrique.

× – Y a t'il eu nitrification de la triméthylamine dans le sol préalablement à son absorption par les plantes?

J'ai fait cette recherche de la façon suivante:

J'ai prélevé deux échantillons copieux des sols, que j'ai épuisés

par lixiviation au moyen d'eau distillée. J'ai ensuite essayé les liqueurs par la méthode de Schloesing. Je n'ai pas recueilli la moindre trace de bioxyde d'azote. Il n'y avait donc pas eu nitrification dans le sol.

— L'Azote contenu dans les plantes était-il dû à de la triméthylamine introduite par osmose dans les tissus sans y avoir subi de modification, ou bien y était-il partiellement à l'état de combinaison d'une nature différente?

1re Expérience. — Cette expérience a été faite le 20 Août sur le lot de plantes ayant poussé à l'étuve.

Je me suis fondé sur ce fait que les sels de méthylamines et d'éthylamines (les premiers termes de la série), traités par la potasse laissent dégager leur azote à l'état d'ammoniaque absolument comme les sels ammoniacaux.

J'ai donc opéré de la façon suivante. Dans un ballon muni d'un court réfrigérant à reflux, afin d'éviter l'entraînement mécanique de potasse par la vapeur d'eau, j'ai introduit un poids déterminé de plantes fraîches broyées avec de l'eau distillée, et de la potasse caustique, et j'ai porté le tout à l'ébullition.

Les gaz sont recueillis dans une solution titrée d'acide sulfurique. Lorsque tout le gaz ammoniac a fini de se dégager, un nouveau titrage de l'acide sulfurique permet de connaître la quantité d'ammoniaque dégagée & par suite la quantité de triméthylamine contenue dans les plantes.

Expérience. — 3 plantes fraîches pesant 7 gr. 320 sont distillées en présence de potasse. Les gaz sont recueillis dans 10 cc. d'une solution normale d'acide sulfurique contenant 49 gr. d'acide monohydraté par litre. Le titrage final sera fait à l'aide d'une solution de potasse telle que 10 cc. d'acide sulfurique normal (à 49 g. par litre) exigent pour être saturés 277 divisions d'une burette (en 1/10 de cc.) de solution de potasse.

Après dégagement complet de l'ammoniaque la solution sulfurique a été additionnée d'une goutte de phtaléine du phénol et titrée à nouveau à l'aide de la solution de potasse.

Il a fallu 275 div. de la burette pour obtenir la saturation.

Comme 277 div. de la burette correspondent à 10 cc. d'acide normal

275 div. ———— $\frac{10 \times 275}{277}$ cc. ———

Et comme 10 cc. d'acide sulfurique normal contiennent 0g. 49 d'acide monohydraté,

$\frac{10 \times 275}{277}$ cc ———————— $\frac{0,49 \times 10 \times 275}{277}$ =

0g. 4864 d'acide monohydraté.

Il y a donc eu 0.49 – 0,4864 = 0g. 003 mgr 6 d'acide sulfurique saturé par l'ammoniaque.

Le poids d'ammoniaque correspondant est par suite $\frac{3,6 \times 17}{49}$ = 1 mgr 25

Ce qui correspond à $\frac{1.25 \times 14}{17}$ = 1 mg 03 d'azote.

Une plante du poids moyen de $\frac{7.320}{3}$ = 2g. 44 contient donc $\frac{1.03}{3}$ =

0 mg. 343 d'Azote à l'état de triméthylamine.

Par suite une plante du poids de 3g 11 (poids moyen frais d'une des plantes analysées pour l'Azote total) en contiendrait $\frac{0.343 \times 3.11}{2.44}$ = 0 mgr. 437 à l'état de triméthylamine.

Il y a donc eu un gain réel d'Azote assimilé de 10.4 – 0.437 =

9 mgr 963.

2e Expérience. — Ne pouvant faire cette recherche sur l'autre lot que quelques jours plus tard, j'ai ajouté le 20 Août à ce pot par voie d'arrosage 15 centigrammes de chlorhydrate de triméthylamine et 25 centim. cubes de la solution mère sans azote signalée plus haut.

Le 30 Août, j'ai refait les mêmes essais que précédemment sur les plantes de ce lot, mais, pour rendre les résultats comparables, j'ai procédé à un nouveau dosage de l'Azote total.

Dosage de l'Azote total (Méthode de Dumas). —

Deux plantes fraîches pesant 4g. 15, soit 2g. 075 l'une, ont donné un poids sec 375 mgr, soit pour une plante $\frac{375}{2}$ = 187 mg 5.

Il y a donc eu un gain de substance sèche de 187.5 – 137 = 40 mg. 5

Poids de substance prélevé ——— 150 mgr

Vol. d'Azote ——————— 9cc 0

t = 15° Pr. atm. 769 m/m.

D'où l'on tire le poids de l'azote.

$$p = \frac{9(769 - 12.7)}{760(1+0,00367 \times 1)} \times 0,001263 = 10 mgr\,58$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 187 mgr 5

$$P = \frac{10.58 \times 187.5}{150} = 13 mgr.\,225$$

Il y a donc eu un gain d'azote total par rapport à l'azote initial de la graine de

$$13.225 - 10.3 = 2 mgr\,925.$$

Dosage de l'Azote à l'état de triméthylamine. — Cet essai n'a pu porter que sur une seule plante pesant 1g. 160.

La solution de potasse employée est telle que 276 div. de la burette saturent exactement 10cc. d'acide sulfurique normal à 49 gr. par litre.

La plante a été traitée par la potasse comme il est dit plus haut, et les gaz recueillis dans 10cc. d'acide sulfurique normal.

Au titrage final il a fallu, pour saturer les 10 cc. d'acide, 276 divisions (un peu faible) de la burette. Il n'y a donc dans les plantes du second lot que des traces d'azote à l'état de triméthylamine.

— S'était-il produit dans le sol une fermentation ammoniacale dont l'effet aurait été la transformation en sel ammoniacal du chlorhydrate de triméthylamine employé ?

Le seul procédé applicable pour la recherche des sels ammoniacaux en présence d'amines ou de sels d'amines consiste dans l'emploi du réactif de Nessler. Cet essai, quoique qualitatif, n'en est pas moins d'une grande précision, étant donnée la sensibilité du réactif qui, en présence de traces d'ammoniaque ou de sels ammoniacaux donne un précipité rouge brique, tandis qu'avec les amines il ne donne pas de précipité (termes inférieurs de la série) ou bien un précipité blanc ou jaune pâle (termes supérieurs).

L'expérience consistait donc à lixivier le sol avec de l'eau distillée bien exempte d'ammoniaque et à essayer par le réactif de Nessler le produit de la lixiviation.

Or, dans ces conditions, je n'ai obtenu <u>aucun précipité par le réactif de Nessler</u>. Le sol & par suite le sel de triméthylamine

n'avait donc pas subi de fermentation ammoniacale antérieurement à son assimilation par la plante.

En résumé. — Ces expériences préliminaires ont montré que des plantes, placées dans un milieu nutritif azoté à base de triméthylamine, étaient susceptibles d'assimiler l'azote sous cette forme.

Cette assimilation avait eu lieu directement, sans transformation préalable dans le sol ou la plante, sous l'influence d'une fermentation nitrique ou ammoniacale.

Restaient à préciser ~~cett~~ les conditions de cette assimilation en se mettant à l'abri des causes d'erreurs provenant d'agents extérieurs, et à étendre ces recherches à toute la série des amines et des alcaloïdes. Ces recherches font l'objet de la seconde partie de ce chapitre.

Expériences définitives. –

Avant d'entreprendre mes expériences définitives j'ai commencé par faire choix des plantes sur lesquelles je ferais mes recherches. Il fallait en effet des plantes qui ne fussent pas des Légumineuses, puisque ces plantes fixent l'azote atmosphérique; il fallait en outre que ces plantes aient des graines assez grosses pour que l'échantillonnage se fît facilement avec exactitude, et que leur croissance fût rapide afin de diminuer les chances de contamination du sol.

Je me suis arrêté aux plantes suivantes:

Cucurbita maxima; Zea Maïs; Cucumis prophetarum; Helianthus annuus; Ipomaea purpurea; Cnicus benedictus.

J'ai commencé par en faire l'analyse.

A cet effet j'ai choisi 10 graines de chaque espèce, prises aussi moyennes que possible dans un lot de graines fourni uniquement par une seule plante. De la sorte, les graines qui seront plantées ensuite présenteront aussi exactement que possible la même composition que le type analysé.

J'ai déterminé le poids sec moyen d'une graine et sa teneur en azote total.

Tous mes dosages d'azote ont été effectués par la méthode de Dumas. Voici les résultats donnés par l'analyse des graines.

Analyse des graines.

I. _ Cucurbita maxima.

L'analyse des graines a été donnée en détail dans les expériences préliminaires. Je rappelle seulement les résultats:

Poids moyen sec d'une graine – – 137 mgr.

Azote total contenu dans une graine 10 mgr. 3.

II. Zea Maïs

La variété de Maïs que j'ai utilisée pour ces recherches est celle que l'on désigne en agriculture sous le nom de Maïs blanc.

1° Poids sec de 10 grains ——— 1 g. 345

Soit l'une $\frac{1.345}{10}$ = 134 mgr. 5.

2° Dosage de l'azote total. — Les 10 graines sèches ont été pulvérisées et, après séjour à l'exsiccateur, analysées par la méthode de Dumas.

Poids de substance prélevé ——— 238 mgr

Vol. de l'Azote recueilli ——— 7 cc. 0

t = 18° — Pression atm. 751 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{7(751 - 15.5)}{760(1 + 0{,}00367 \times 18)} \times 0{,}001263 = 8 \text{ mgr } 03$$

Ce qui fait pour une graine pesant sèche 134 mgr 5 :

$$P = \frac{8.03 \times 134.5}{238} = 4 \text{ mgr. } 53.$$

III. Cucumis prophetarum.

1° Poids sec de 10 graines ——— 1 g. 532

Soit l'une $\frac{1.532}{10}$ = 153 mgr. 2.

2° Dosage de l'Azote total —

Poids de substance prélevé ——— 300 mgr.

Vol. d'Azote recueilli ——— 19 cc 0.

t = 11° Pression atm. = 750

D'où l'on tire :

$$p = \frac{19(750 - 9.77)}{760(1 + 0{,}00367 \times 11)} \times 0{,}001263 = 22 \text{ mgr. } 46$$

Ce qui fait pour une graine pesant sèche 153 mgr 2

$$P = \frac{22.46 \times 153.2}{300} = 11 \text{ mgr. } 47.$$

IV. Helianthus annuus.

1° Poids sec de 10 graines ——— 638 mgr.

Soit l'une $\frac{638}{10}$ = 63 mgr 8

2° Dosage de l'azote total. —

Poids de substance prélevé .... 255 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli .... 10 cc. 6.
t = 13° Pression atm. = 747 m/m.
D'où l'on tire :
$$p = \frac{10,6\,(747 - 11.3)}{760\,(1 + 0,00367 \times 13)} \times 0,001263 = 12 \text{ mgr. } 37$$
Ce qui fait pour une graine pesant sèche 63 mgr. 8
$$\underline{P} = \frac{12.37 \times 63,8}{255} = \underline{3 \text{ mgr. } 10}.$$

V. – Ipomaea purpurea.

1° Poids de 10 graines sèches .... 260 mgr.
Soit l'une $\frac{260}{10}$ = 26 mgr.
2° Dosage de l'Azote total. –
Poids de substance prélevé .... 256 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli .... 10 cc. 6
t = 16° Pression atm. = 756 m/m.
D'où l'on tire :
$$p = \frac{10,6\,(756 - 13,6)}{760\,(1 + 0,00367 \times 16)} \times 0,001263 = 12 \text{ mgr. } 35$$
Ce qui fait pour une graine pesant sèche 26 mgr.
$$\underline{P} = \frac{12.35 \times 26}{256} = \underline{1 \text{ mgr. } 258}.$$

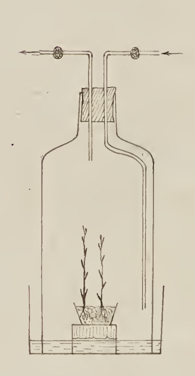
VI. – Cnicus benedictus.

1° Poids de 10 graines sèches .... 218 mgr.
Soit l'une $\frac{218}{10}$ = 21 mgr. 8.
2° Dosage de l'azote total.
Poids de substance prélevé .... 202 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli .... 8 cc. 6.
t = 14° Pression atm. = 758 m/m.
D'où l'on tire :
$$p = \frac{8,6\,(758 - 12)}{760\,(1 + 0,00367 \times 14)} \times 0,001263 = 10 \text{ mgr. } 14$$
Ce qui fait pour une ~~plante~~ graine pesant sèche 21 mgr. 8 :
$$\underline{P} = \frac{10.14 \times 21.8}{202} = \underline{1 \text{ mgr. } 094}.$$

Appareil et modes de Culture. –

Ceci posé, il fallait instituer les expériences de telle sorte que l'on fût à l'abri de toutes les causes d'erreur extérieures provenant de l'apport, soit par les poussières atmosphériques, soit par l'eau d'arrosage, de matériaux azotés ou de ferments susceptibles de fixer sur le sol l'azote atmosphérique.

Pour atteindre ce but je me suis servi de l'appareil suivant.



Un cristallisoir de grandes dimensions renferme une certaine quantité d'une solution aqueuse de sublimé à 1/2000. Dans la solution plonge la partie inférieure d'une cloche à douille de forme haute portant à la partie supérieure un bouchon de caoutchouc qui donne passage à deux ~~tubulures~~ tubes dont l'une plonge jusqu'à la partie inférieure de la cloche, l'autre jusqu'à la partie supérieure.

Les deux ~~tubulures~~ tubes présentent un renflement garni de coton au sublimé.

Les parois intérieures de la cloche, le bouchon, les tubes de verre, tant à l'extérieur que dans leur intérieur, ont été passés soigneusement au sublimé à 1/300 et renversés tout humides sur le cristallisoir. Le coton des tubulures a été également imprégné de cette solution de sublimé à 1/300.

Dans l'intérieur de la cloche est disposé un cristallisoir paraffiné émergeant de la solution de sublimé. La paraffine a pour but de s'opposer au grimpage de la solution qui pourrait à la longue exercer sur les plantes un effet nuisible. Néanmoins le cristallisoir a été passé au sublimé à 1/300 avant d'être introduit humide sous la cloche.

Sur ce cristallisoir sera disposée la culture.

La préparation de celle-ci est l'objet de soins particuliers.

— Le pot est en terre et de forme basse (terrine)

Il a été chauffé au rouge et refroidi sous une cloche dont la partie inférieure repose dans une solution de sublimé, et qui a été elle-même passée au sublimé à 1/300. De la sorte la contamination du pot par les poussières atmosphériques est évitée pendant son refroidissement.

— Dans le pot se trouve du sable siliceux lavé, puis calciné au rouge dans le pot et refroidi avec lui sous la cloche.

— Le pot contenant le sable n'est retiré de la cloche à refroidir que dans une serre dont l'atmosphère est saturée d'humidité et par suite ne contient pas de poussières. Cette opération ne s'effectue qu'au moment précis où sera faite la plantation.

L'opérateur, après s'être lavé soigneusement et longuement les mains dans du sublimé à 1/300, dispose rapidement dans le sable les graines à expérimenter. Ces graines ont séjourné auparavant pendant 5 minutes au moins dans une solution aqueuse de sublimé à 1/2000, et elles sont plantées, humides encore de cette solution.

On ajoute alors la solution nutritive spéciale à chaque culture qui a été préalablement stérilisée à l'autoclave à 120°, et la quantité nécessaire d'eau distillée rigoureusement exempte d'ammoniaque et stérilisée également à 120°.

L'opérateur doit avoir soin de tenir ses mains constamment imbibées de sublimé, opérer aussi rapidement que possible, et ne pas oublier de flamber l'extrémité des fioles renfermant les liquides d'arrosage avant de les déboucher.

Tous les jours l'air de la cloche est renouvelé au moyen d'un propulseur d'air adapté à une tubulure. De la sorte on n'introduit dans la cloche que de l'air privé de germes par son passage sur le coton au sublimé.

L'air introduit a été en outre privé complètement des traces d'ammoniaque qu'il pourrait contenir.

— Les sels utilisés pour ces recherches sont préparés rigoureusement purs.

Un certain nombre m'ont été gracieusement donnés par Delépine ; les autres ont été préparés par moi-même par saturation d'amines achetées garanties pures. Dans les deux cas, les sels obtenus ont été purifiés par plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu, afin d'éliminer, entre autres produits, le chlorhydrate d'ammoniaque qui est à peu près insoluble dans l'alcool absolu.

Expériences de Culture.

Ces expériences ont été exécutées avec l'appareil et les précautions que je viens d'indiquer afin d'étendre, avec tous les soins possibles, les résultats donnés par les expériences préliminaires à toutes les amines que j'ai réussi à me procurer et à un certain nombre d'alcaloïdes.

Lorsque la quantité de plantes recueillies me l'a permis, je me suis livré à plusieurs analyses dont les résultats sont alors donnés sous la forme de l'analyse moyenne. Je dois d'ailleurs ajouter que, grâce à la précision de la méthode de Dumas, les écarts obtenus entre deux analyses consécutives ont toujours été extrêmement faibles.

L'analyse des plantes a été suivie, dans tous les cas, d'un essai du sol en vue d'y rechercher s'il avait été le siège d'une fermentation nitrique ou ammoniacale. Les résultats analytiques obtenus avec des plantes dont le substratum avait subi une fermentation, même légère, ont été systématiquement laissés de côté, de façon à ne présenter qu'un ensemble d'expériences aussi rigoureuses que possible.

Voici les résultats obtenus avec les diverses cultures.

Triméthylamine.–

La triméthylamine a été employée à l'état de chlorhydrate, de même que dans les expériences préliminaires.

Les recherches ont porté sur les plantes suivantes : Zea Maïs, Cucumis prophetarum, Helianthus annuus, Ipomaea purpurea.

Maïs.–

Le 16 Octobre 1896 j'ai semé, avec les précautions indiquées plus haut, 10 graines de Maïs dans du sable additionné de l'engrais ci-après, stérilisé au préalable.

Solution mère sans azote (1) — 50 cc.

Chlorhydrate de triméthylamine pur — 0,50

Le 27 Novembre j'ai prélevé 4 plantes qui ont été séchées à l'étuve, pesées & analysées.

— 1°.– Poids sec des 4 plantes : — 648 mgr.

Soit l'une — $\frac{648}{4}$ = 162 mgr.

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain de 162 – 134.5 = 27 mgr 5

– 2°. – Dosage de l'Azote total.–

Poids de substance prélevée — 228 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli — 6 cc. 9

t = 19° Pression atm. = 740

D'où l'on tire :

$$p = \frac{6.9\,(740 - 16,4/2)}{760\,(1 + 0.0036) \times 19)} \times 0.001263 = 7 \text{ mgr. } 76$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 162 mgr.

$$P = \frac{7.76 \times 162}{228} = 5 \text{ mgr. } 51.$$

Ceci représente par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine un gain de 5.51 – 4.53 = 0 mgr. 98

Soit 22,2 %

— Le sol a été ensuite lixivié par de l'eau distillée rigoureusement

(1).– La formule de cette solution mère a été donnée dans les expériences préliminaires.

pure, et le liquide a été essayé au point de vue de la fermentation nitrique par la méthode de Schloesing et à celui de la fermentation ammoniacale par le réactif de Nessler.

Ces deux essais ont donné des résultats négatifs. La triméthylamine avait donc bien été assimilée sans avoir subi de transformation préalable dans le sol.

Cucumis prophetarum.

Le 16 Avril 1897 j'ai semé avec les précautions habituelles 10 graines de Cucumis prophetarum dans du sable additionné de l'engrais ci-après:

Solution mère sans azote ——— 50cc.

Chlorhydrate de triméthylamine pur 0g50.

L'expérience a été arrêtée le 1er Mai. J'ai recueilli 4 plantes avec les téguments de leurs graines.

– 1°. – Poids sec des 4 plantes ——— 663 mgr.

Soit l'une $\frac{663}{4} = 165 \text{ mgr } 75$

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un gain de

$165.75 - 153.20 = 12 \text{ mgr } 55$.

– 2°. – Dosage de l'azote total. –

Poids de substance prélevé ——— 197 mgr.

Vol. d'azote recueilli ——— 12cc. 0

$t = 15°$ Pr. atm. = 755

D'où l'on tire:

$$p = \frac{12\,(755 - 12.7)}{760\,(1 + 0{,}00367 \times 15)} \times 0{,}001263 = 14 \text{ mgr } 03$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 165 mg 75

$$P = \frac{14{,}03 \times 165.75}{197} = 11 \text{ mg } 81$$

Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de

$11.81 - 11.34 = 0 \text{ mg } 34$

Ce gain est très faible, mais il doit être attribué à une légère altération présentée dès leur germination par les cotylédons de la

plupart des graines et dont la conséquence a été la déperdition d'une certaine proportion de leur azote initial.

— L'essai du sol au point de vue des fermentations nitrique et ammoniacale a donné des résultats négatifs.

Helianthus annuus.

Le 4 Mars 1897 j'ai semé 10 graines d'Helianthus annuus dans du sable additionné d'un engrais présentant la même composition que dans les expériences précédentes.

L'expérience a été arrêtée le 2 Avril. J'ai recueilli 3 plantes que j'ai soumises à l'analyse.

— 1°. — Poids sec des 3 plantes ——— 360 mgr.

Soit l'une $\frac{360}{3} = 120$ mgr.

Gain sur le poids sec d'une graine :

120 — 63,8 = 56 mgr 2

Soit par rapport à ce poids un gain de 88,08 %.

— 2°. — Dosage de l'azote total. —

Poids de substance prélevé ——— 200 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli ——— 5cc. 0

t = 18° ——— Pression atm. = 754 mm

D'où l'on tire :

$$p = \frac{5(754 - 15.5)}{760(1 + 0,00367 \times 18)} \times 0,001253 = 5 \text{ mgr. } 764$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 120 mgr. —

$$P = \frac{5.764 \times 120}{200} = 3 \text{ mg } 458$$

— Gain sur l'azote initial de la graine

3.458 — 3.10 = 0 mg 348

Soit 11,22 %.

— L'essai ultérieur du sol au point de vue fermentations nitrique ou ammoniacale a donné des résultats négatifs.

Ipomaea purpurea. –

— Le 16 Avril 1897 j'ai semé avec les précautions habituelles 10 graines d'Ipomaea purpurea dans du sable additionné d'un engrais de même composition que celui des expériences précédentes.

— L'expérience a été arrêtée le 17 Mai. J'ai recueilli 6 plantes que j'ai séchées et analysées.

– 1° – Poids des 6 plantes sèches ———— 285 mgr.

Soit l'une $\frac{285}{6}$ = 47 mgr. 5

Gain par rapport au poids sec de la graine

47.5 – 26 = 21 mgr. 5

Soit 82.7 %.

– 2° – Dosage de l'Azote total. –

Poids de substance prélevé ———— 169 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli ———— 6 cc. 0

t = 19° Pression atm. = 747 m/m.

D'où l'on tire

$$p = \frac{6(747 - 16.4)}{760(1 + 0.00367 \times 19)} \times 0.001258 = 6 \text{ mgr. } 81.$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 47 mgr. 5

$$P = \frac{6.81 \times 47.5}{169} = 1 \text{ mgr. } 914$$

Gain sur l'azote initial de la graine:

1.914 – 1.258 = 0 mg 656

Soit 52.14 %

Résumé. –

Les expériences qui précèdent concordent entre elles et confirment pleinement les résultats des expériences préliminaires.

Les plantes sont susceptibles de puiser leur azote dans la triméthylamine et de l'assimiler sans que ce corps ait eu besoin de subir dans le sol une transformation quelconque.

Diméthylamine.—

— La diméthylamine employée m'a été donnée par Delépine, bien privée, au moyen de son procédé à l'aldéhyde formique, des deux autres méthylamines.

Malheureusement je n'en ai eu en ma possession qu'une assez faible quantité, et, comme il m'en fallait conserver la majeure partie pour mes recherches sur la nutrition des Champignons, je n'ai pu faire qu'une expérience.

Cucurbita maxima.

Le 3 septembre 1896 j'ai semé 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais ci-après:

Solution mère sans azote. —— 50cc.

Chlorhydrate de Diméthylamine — 0g.50

L'expérience a été arrêtée le 14 Octobre. J'ai prélevé deux plantes que j'ai séchées et analysées.

— 1°.— Poids sec des deux plantes. —— 420 mgr.

Soit l'une $\frac{420}{2} = 210$ mgr.

Gain par rapport au poids sec d'une graine

$210 - 137 = 73$ mgr.

Soit 53.5 % de ce poids initial.

— 2°.— Dosage de l'Azote total.—

Poids de substance prélevé —— 157 mgr.

Vol. d'Azote recueilli —— 9cc.0

$t = 11°5$ Pression atm. = 742 m/m.

D'où l'on tire:

$$p = \frac{9(742-9.9)}{760(1+0{,}00367\times 11{,}5)} \times 0{,}001253 = 10 \text{ mgr. } 516$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 210 mgr.

$$P = \frac{10{,}516 \times 210}{157} = 14 \text{ mgr. } 066$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine
14.066 − 10.3 = 3mgr. 766
Soit *36.5 %* de cet azote initial.
— L'essai du sol n'a décelé aucune fermentation.

Résumé. —

De même que la triméthylamine, la diméthylamine est donc susceptible d'être assimilée par la plante et de servir à sa nutrition azotée, sans avoir subi dans le sol de transformations préalables.

Monométhylamine. —

Pour la même raison que dans le cas de la diméthylamine, je n'ai pu faire qu'une expérience.

Cucurbita maxima.

Le 3 Septembre 1896 j'ai semé 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable calciné additionné de l'engrais ci-après.

Solution mère sans Azote — — 50cc.
Chlorhydrate de monométhylamine — 0g.50

L'expérience a été arrêtée le 14 Octobre. J'ai alors prélevé deux plantes que j'ai séchées, pesées & analysées.

1°. — *Poids sec* des deux plantes — — 446 mgr.
Soit *l'une* $\frac{446}{2}$ = 223 mgr.

Ceci représente par rapport au poids sec d'une graine un *gain* de 223 − 137 = 86 mgr
Soit *62.7 %* de ce poids initial.

2°. — Dosage de l'azote total. —

Poids de substance prélevé — — 150 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli — 9cc. 3

$t = 11°$ Pression atm. = 743 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{9.3(743 - 9.8)}{760(1 + 0.00367 \times 11)} \times 0.001263 = 10 \text{ mgr } 90$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 223 mgr.

$$P = \frac{10.90 \times 223}{150} = 16 \text{ mgr. } 2$$

Gain par rapport à l'Azote initial d'une graine.

$$16.2 - 10.3 = 5 \text{ mgr } 9$$

Soit 57.2 % de cet azote initial.

— L'essai ultérieur du sol n'a décelé aucune fermentation.

Résumé. —

La monométhylamine s'est conduite vis à vis des plantes comme les deux autres méthylamines : elle est directement assimilable, en tant que source naturelle d'Azote, et cela sans avoir eu à subir de transformation préalable dans le sol.

Diéthylamine. ~

La diéthylamine employée a été purifiée par recristallisations dans l'alcool absolu. Les expériences ont été effectuées à l'aide des plantes suivantes : Cucurbita maxima, Zea Maïs, Cnicus benedictus, Ipomaea purpurea.

Cucurbita Maxima.

Le 10 Octobre 1895 j'ai semé 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote — 50 cc.

Chlorhydrate de Diéthylamine — 0 g. 50

Le 19 Novembre j'ai arrêté l'expérience et recueilli trois plantes destinées à l'analyse.

— 1° — Poids sec des trois plantes — — 606 mgr.
Soit l'une $\frac{606}{3} = 202$ mgr.
Gain par rapport au poids sec initial d'une graine.
$202 - 137 = 65$ mgr.
Soit 50 % environ.
— 2° — Dosage de l'Azote total. —
Poids de substance prélevé — — 287 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli — — 19 cc. 4
$t = 19°$ Pression atm = 740
D'où l'on tire.
$$p = \frac{19.4\,(740 - 16.4)}{760\,(1 + 0.00367 \times 19)} \times 1.001263 = 21 \text{ mgr } 8.$$
Ce qui fait pour une plante pesant sèche 202 mgr.
$$P = \frac{21.8 \times 202}{287} = 15 \text{ mgr } 3$$
Ceci représente par rapport à l'azote initial de la graine un gain de
$15.3 - 10.3 = 5$ mgr 0
Soit 50 % environ de cet azote initial.
— L'essai du sol n'a décelé aucune fermentation.

Zea Maïs. ~

Le 16 Octobre 1885 j'ai semé 10 graines de Maïs dans du sable additionné d'un engrais composé comme le précédent.
Le 27 Novembre j'ai prélevé trois plantes destinées à l'analyse.
— 1° — Poids sec des 3 plantes — — 615 mgr.
Soit l'une $\frac{615}{3} = 205$ mgr.
Gain par rapport au poids sec initial d'une graine.
$205 - 134.5 = 70$ mgr 5
Soit 52.5 % de cet azote initial.
— 2° — Dosage de l'Azote total —
Poids de substance prélevé — — 245 mgr
Vol. de l'Azote recueilli — — 5 cc. 0
$t = 18°$ Pression atm. = 756 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{5(756-15,5)}{760(1+0,00367)\times 18} \times 0,001253 = 5 \text{ mgr. } 771$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 205 mgr

$$P = \frac{5.771 \times 205}{245} = 4 \text{ mgr } 833$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine :

$$4.833 - 4.53 = 0 \text{ mg } 303$$

Soit 6,7 % de ce poids initial.

— L'essai du sol après culture n'a décelé aucune fermentation.

Cnicus benedictus.

Le 4 Mars 1897 j'ai semé 10 graines de Cnicus benedictus dans du sable additionné du même engrais que ci-dessus.

Le 2 Avril j'ai recueilli 5 plantes avec les téguments de leurs graines.

— 1°. Poids sec des 5 plantes — 230 mgr.

Soit l'une $\frac{230}{5} = 46$ mgr.

Gain par rapport au poids sec de la graine :

$$46 - 21.5 = 24 \text{ mgr } 2$$

Soit 109,10 % de ce poids initial.

— Une rupture du tube à combustion m'a empêché d'avoir la quantité d'Azote contenue dans les plantes. Néanmoins comme une semblable augmentation de poids sec ne va pas sans un accroissement notable de la quantité d'Azote j'ai cru devoir mentionner ce résultat.

Ipomaea purpurea —

Le 6 Janvier 1897 j'ai semé 10 graines d'Ipomaea purpurea dans du sable calciné additionné de même engrais que dans les cas précédents.

Le 23 février j'ai arrêté l'expérience et recueilli 8 plantes que j'ai analysées après dessication préalable.

— 1°. — Poids des 8 plantes sèches — 308 mgr.

soit l'une $\frac{308}{8} = 38$ mgr 5.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine.

$38,5 - 26 = 12$ mgr 5

Soit 48,08 % de ce poids initial.

— 2°. — Dosage de l'azote total. —

Poids prélevé ——— 182 mgr.

Vol. de l'azote recueilli ——— 7 cc. 2

$t = 10°$ Pression atm. = 751 m/m.

D'où l'on tire.

$$p = \frac{7.2\,(751 - 9.16)}{760\,(1 + 0.00367 \times 10)} \times 0,001262 = 8 \text{ mgr } 56.$$

Ceci fait pour une plante pesant sèche 38 mgr 5

$$P = \frac{8.56 \times 38.5}{182} = 1 \text{ mgr } 809$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine.

$1.809 - 1.258 = 0$ mgr 551

Soit 43.8 % de cet azote initial.

— L'essai du sol après culture n'a décelé aucune fermentation.

Résumé. —

Tous ces résultats concordent entre eux pour montrer que la ~~di~~ éthylamine peut, de même que les méthylamines, servir de source d'azote pour les plantes. Elle peut être assimilée directement sans avoir eu à subir de transformation préalable dans le sol.

Propylamine. —

J'ai employé le chlorhydrate de propylamine normal que j'ai préparé et purifié moi-même par saturation de propylamine normale, garantie pure, au moyen d'acide chlorhydrique pur, et par recristallisation répétées dans l'alcool absolu.

Les expériences ont été faites à l'aide de deux plantes suivantes: Zea Maïs, Cucumis prophetarum.

Zea Maïs.

Le 26 Novembre 1895 j'ai semé 10 graines de Maïs dans du sable préparé avec les précautions habituelles et additionné de l'engrais ci-après:

Solution mère sans azote . . . 50 cc.

Chlorhydrate de propylamine normal 2 / 10

L'expérience est arrêtée le 22 Décembre. J'ai recueilli 6 plantes destinées à l'analyse.

— 1°. — Poids des 6 plantes sèches . . . 815 mgr.

Soit l'une . . . $\frac{815}{6}$ = 136 mgr.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine.

136 — 134.5 = 1 mg 5

— 2°. — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé . . . 250 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli . . . 7 cc. 2

t = 16°. Pression atm. = 766 m/m.

D'où l'on tire.

$$p = \frac{7.2\,(766 - 13,6)}{760\,(1 + 0,00367 \times 16)} \times 0.001263 = 8 \text{ mgr. } 503$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 136 mgr

$$P = \frac{8.503 \times 136}{250} = 4 \text{ mgr } 63$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la graine:

4.63 — 4.53 = 0 mg 10

Ce gain est très faible. Il doit être attribué aux mauvaises conditions de la végétation retardée et contrariée par la température.

— L'essai ultérieur du sol, après culture, n'a décelé aucune fermentation, nitrique ou ammoniacale.

Cucumis prophetarum.

Le 16 Avril 1897 j'ai semé dans un milieu présentant la même composition que le précédent 10 graines de Cucumis prophetarum.

— L'expérience a été arrêtée le 13 Mai, et j'ai recueilli 5 plantes destinées à l'analyse.

— 1°. — Poids des 5 plantes sèches ——— 845 mgr.

Soit l'une — $\frac{845}{5}$ = —— 169 mgr.

Gain par rapport au poids sec initial de la graine:

$169 - 153,2 = 15$ mgr 8

Soit 10 % environ de ce poids initial.

— 2°. — Dosage de l'azote total. —

Poids de substance prélevé ——— 189 mgr.

Volume d'Azote recueilli ——— 12cc. 2

$t = 15°$ Pression atm. = 752 m/m.

D'où l'on tire.

$$p = \frac{12.2\,(752 - 13,6)}{760\,(1 + 0,00367 \times 16)} \times 0,001252 = 14 \text{ mgr}.02$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 169 mgr

$$P = \frac{14,02 \times 169}{189} = 12 \text{ mg } 53$$

Gain par rapport à l'azote initial de la graine:

$12,53 - 11,47 = 1$ mg 06

Soit 10 % environ de ce poids initial.

— L'essai du sol après culture n'a révélé aucune fermentation.

Résumé. —

De même que les amines étudiées précédemment, la propylamine est susceptible d'être utilisée comme aliment azoté par les plantes. Elle peut être assimilée directement sans avoir subi au préalable dans le sol de fermentation ammoniacale ou nitrique.

Butylamine.

J'ai employé l'isobutylamine que j'ai transformée en chlorhydrate et purifiée par recristallisations dans l'alcool absolu. Les expériences ont été poursuivies sur les deux espèces : Cucumis prophetarum et Ipomaea purpurea.

Cucumis prophetarum.

Le 6 Janvier 1897, j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cucumis prophetarum dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote .... 50cc.
Chlorhydrate d'Isobutylamine 0g.50

Le 9 Février, j'ai recueilli trois plantes destinées à l'analyse.

— 1°. — Poids sec des trois plantes : — 471 mgr.
Soit l'une $\frac{471}{3} = 157$ mgr.

Gain par rapport au poids sec de la graine :
$157 - 153.2 = 3$ mgr 6.

— 2°. — Dosage de l'Azote total. —
Poids de substance prélevé ——— 187 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli —— 12cc. 2
$\mathcal{E} = 11°$ Pression atm. = 757 m/m.

D'où l'on tire :
$$p = \frac{12.2\,(757 - 9.87)}{760\,(1 + 0.00367 \times 11)} \times 0{,}001263 = 14 \text{ mgr. } 56$$
Ce qui fait pour une plante pesant sèche 157 mgr.
$$P = \frac{14.56 \times 157}{187} = 12 \text{ mgr } 22.$$

Gain par rapport à l'Azote initial d'une graine.
$12,22 - 11,47 = 0$ mg. 75
soit 6.54 % de ce poids initial.

L'essai ultérieur du sol n'a décelé aucune fermentation.

Ipomaea purpurea.

Le 4 Mars 1897 j'ai semé 10 graines d'Ipomaea purpurea dans du sable additionné du même engrais que dans l'expérience précédente.

L'expérience a été arrêtée le 27 Avril. J'ai recueilli 6 plantes destinées à l'analyse.

— 1° — Poids sec des 6 plantes : 337 mgr.

Soit l'une $\frac{337}{6} = 56$ mgr.

Gain par rapport au poids sec de la graine :

$56 - 26 = 30$ mgr.

Soit 115.3 % de ce poids initial.

— 2° — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé —— 190 mgr.

Vol. d'Azote recueilli —— 4cc. 6

$\theta = 18°$ Pression atmosph. = 756 m/m

D'où l'on tire :

$$p = \frac{4,6\,(756 - 15,5)}{760\,(1 + 0,00367 \times 18)} \times 0.001256 = 5 \text{ mgr. } 31$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 56 mgr.

$$P = \frac{5.31 \times 56}{190} = 1 \text{ mgr } 565$$

Gain par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine :

$1.565 - 1.258 = 0$ mg 307

Soit 24.4 % de ce poids initial.

— L'essai du sol après végétation n'a décelé aucune fermentation.

Résumé. —

L'Isobutylamine rentre dans le cas des amines étudiées précédemment : les plantes peuvent l'absorber et l'assimiler, comme source d'azote, sans avoir besoin que ce corps ait été préalablement transformé dans le sol en nitrate ou en sel ammoniacal. —

Amylamine. –

Une partie de l'amylamine employée m'a été donnée par Delépine ; l'autre provient du commerce. Dans les deux cas j'en ai opéré moi-même la saturation et la purification.

Les expériences ont été faites à l'aide des Cucurbita maxima et Cnicus benedictus.

Cucurbita maxima.

Le 24 Septembre 1896 j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais ci-après :

Solution mère sans azote — 50cc.

Chlorhydrate d'amylamine — 0g.50.

Le 5 Novembre j'ai recueilli deux plantes que j'ai séchées & analysées.

— 1°. — Poids sec des deux plantes : — 390 mgr

Soit l'une $\frac{390}{2} = 195$ mgr.

Gain par rapport au poids sec initial d'une graine.

$195 - 137 = 58$ mgr.

— 2°. — Dosage de l'Azote total.

Poids de substance prélevé — 267 mgr.

Vol. d'Azote recueilli — 24cc. 0

$t = 15°.5$ — Pression atm. = 760.

D'où l'on tire.

$$p = \frac{24\,(760 - 13{,}2)}{760\,(1 + 0{,}0036) \times 1/5} \times 0{,}001250 = 28 \text{ mgr } 2$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 195 mgr.

$$P = \frac{28{,}2 \times 195}{267} = 16 \text{ mgr } 87.$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la graine.

$16,87 - 10,3 = 6$ mgr 57

Soit 64 % environ de ce poids initial.

— L'essai du sol a été fait dans des conditions particulières.

Une petite portion de ce sol a été prélevée et analysée. Il ne s'y était produit aucune fermentation.

Le reste a reçu une semence nouvelle (Cucurbita maxima), sans addition d'aucune substance nutritive. La végétation de ces nouvelles plantes a été prolongée un peu plus d'un mois (5 9bre au 10 Décembre).

Bien que l'analyse des plantes recueillies m'ait donné des résultats du même ordre que ceux de la première culture, je ne les mentionnerai pas en détail, car cette expérience n'a pu évidemment être faite dans les conditions d'asepsie rigoureuse exigée par ces recherches.

Le sol a été analysé de nouveau, et cette fois encore je n'ai pas trouvé de produit ayant pu être engendré par une fermentation nitrique ou ammoniacale.

Cette expérience montre donc d'une façon très nette l'absorption directe de l'amylamine.

Cnicus benedictus.

Le 16 Avril 1897 j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cnicus benedictus dans un sol composé comme celui de l'expérience précédente.

Le 17 Mai j'ai recueilli 8 plantes que j'ai séchées, pesées et analysées.

— 1° — Poids des 8 plantes sèches — — 284 mgr.

Soit l'une $\frac{284}{8}$ = 35 mg. 5

Gain par rapport au poids sec initial de la graine:

35.5 — 21.8 = 13 mgr. 7.

Soit 62.83 % de ce poids sec.

— 2° — Dosage de l'Azote total —

Poids de substance prélevé ——— 214 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli ——— 10 cc. 21

t = 22° Pression atm. = 757 m/m

D'où l'on tire:

$$p_0 = \frac{10,2\,(757 - 19.85)}{760\,(1 + 0,0025) \times 22} \times 0,001263 = 11\ \text{mgr}.56$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 35 mgr 5

$$x = \frac{11.56 \times 35.5}{214} = 1\ \text{mgr}\ 917$$

Gain par rapport à l'Azote initial de la graine:

1.917 — 1.094 = 0 mgr. 823

Soit 75.22 % de cet azote initial.

— L'essai du sol après végétation n'a décelé aucune fermentation.

Résumé. —

Les expériences qui précèdent concordent entre elles pour montrer que les sels d'amylamine sont directement assimilables par la plante pour servir à sa nutrition azotée. Ils n'ont pas besoin pour être assimilés de subir une transformation préalable dans le sol.

Allylamine. —

L'allylamine employée a été transformée en chlorhydrate que j'ai purifié par recristallisations répétées dans l'alcool absolu et dans le vide.

Les expériences ont été faites sur les plantes suivantes: Cucurbita maxima, Helianthus annuus (2 expériences) Cnicus benedictus, Cucumis prophetarum.

Cucumis prophetarum

Le 6 Janvier 1897 j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cucumis prophetarum dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans azote — 50 cc.

Chlorhydrate d'allylamine — 0 g. 50.

Le 1er Février, remarquant que les plantes dépérissaient, j'ai arrêté l'expérience ; j'ai trié les plantes, au nombre de trois, qui ne présentaient aucune trace d'altération, je les ai séchés puis analysés.

— 1° — Poids des trois plantes sèches ——— 535 mgr.

Soit l'une $\frac{535}{3}$ = 178 mgr 33.

Gain par rapport au poids initial de la graine

178,33 − 137 = 41 mgr 33.

— 2° — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé — ——— 245 mgr.

Vol. d'Azote recueilli ——— ——— 11 cc. 5

t = 16°   Pression atm. = 765 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{11.5\,(765 - 13.6)}{760\,(1 + 0,00367 \times 16)} \times 0,001263 = 13 \text{ mgr. } 564$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 178 mg. 33.

$$P = \frac{13.564 \times 178.33}{245} = 9 \text{ mg. } 873$$

Perte par rapport à l'Azote initial de la graine :

10.3 − 9.873 = 0 mg. 427

Soit 4.145 % de cet azote initial.

— L'essai du sol après culture n'a décelé aucune fermentation.

Autres plantes. —

Il m'a été impossible, quelques précautions que j'aie prises de faire végéter d'autres plantes dans le sol additionné d'allylamine (Chlorhydrate). La germination s'effectuait toujours dans de bonnes conditions, puis brusquement les plantes ont dépéri avec une grande rapidité et elles sont toutes mortes en peu de jours.

J'ai néanmoins constaté sur les divers sols de culture qu'ils n'avaient été pendant la végétation le siège d'aucune transformation de l'allylamine employée.

Résumé. —

L'allylamine, au contraire de toutes celles étudiées précédemment, se montre donc impropre à la nutrition azotée des végétaux phanérogames, dans le cas bien entendu, où elle ne subit aucune fermentation dans le sol.

Quant à la perte d'azote éprouvée par les plantes pendant leur végétation dans le sel d'allylamine, j'aurai l'occasion d'y revenir un peu plus loin.

Benzylamine. —

J'ai employé la benzylamine à l'état de chlorhydrate que j'ai préparé par saturation et recristallisations dans l'alcool absolu, à l'aide de benzylamine garantie pure.

Mes recherches ont été effectuées sur les deux plantes suivantes: Zea Maïs et Cucumis prophetarum.

Zea Maïs

Le 26 Novembre 1896 j'ai semé, avec les précautions habituelles 10 graines de Maïs dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans azote — 500cc.

Chlorhydrate de benzylamine — 0g.50.

L'opération est arrêtée le 31 Décembre. J'ai prélevé trois plantes parfaitement saines que j'ai soumises à l'analyse.

— 1°. — Poids sec des trois plantes: 312mgr.

Soit l'une $\frac{312}{3} = 104$ mgr. —

Perte par rapport au poids sec initial de la graine.

134.5 − 104 = 30 mgr. 5

Soit 22.67 % de ce poids initial.

— 2º — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé —— 200 mgr.

Vol. d'Azote recueilli —— 6 cc. 0

$t = 15°$ Pression atm. = 758

D'où l'on tire :

$$p = \frac{6(758 - 14.7)}{760(1 + 0,00367 \times 15)} \times 0,001263 = 7 \text{ mg. } 025$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 104 mgr.

$$P = \frac{7.025 \times 104}{200} = 3 \text{ mgr } 653$$

__Perte__ par rapport au poids initial de l'Azote d'une graine.

$4.53 - 3.653 = 0 \text{ mgr. } 877.$

Soit __19.35 %__ de ce poids initial.

— L'essai du sol après végétation n'y a décelé aucune fermentation.

Cucumis prophetarum.

Le 4 Mars 1877 j'ai semé avec les précautions habituelles 10 graines de Cucumis prophetarum dans du sable additionné d'un engrais analogue à celui de l'expérience précédente.

Le 5 Avril j'ai prélevé trois plantes bien saines que j'ai soumises à l'analyse. (Les téguments des graines ont été joints aux plantes)

— 1º — __Poids sec__ des trois plantes. —— 720 mgr.

Soit __l'une__ $\frac{720}{3} = 240$ mgr.

__Gain__ par rapport au poids sec initial de la graine

~~240~~ $- 153,2 =$ __86 mgr 8__

Soit 56,65 % de ce poids initial.

— 2º — Dosage de l'Azote total —

Poids de substance prélevé —— 224 mgr.

Vol. d'Azote recueilli —— 9 cc. 0

$t = 20°$ Pression atm. = 760 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{9(760 - 17.4)}{760(1 + 0,00367 \times 20)} \times 0,001263 = 10 \text{ mgr } 34.$$

Ce qui fait __pour une plante__ pesant sèche 240 mgr.

$$P = \frac{10.34 \times 240}{224} = 11 \text{ mg. } 07$$

Perte par rapport à l'azote initial contenu dans une graine:

11.47 – 11.07 = 0 mgr 40

Soit 3.50 % de ce poids initial.

— L'essai du sol après culture a montré qu'il ne s'y était produit aucune fermentation susceptible de changer la nature du produit azoté qu'il contenait.

Résumé. –

La benzylamine ne peut pas non plus servir à la nutrition azotée des phanérogames, si toutefois elle ne subit pas dans le sol de fermentation préalable.

Les végétaux y subissent en outre une perte d'azote comme dans le cas de l'allylamine.

Diphénylamine. –

Le chlorhydrate de Diphénylamine que j'ai employé pour ces recherches a été acheté garanti pur et je l'ai soumis à plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu.

J'ai fait plusieurs expériences portant sur les plantes suivantes: Cucurbita maxima et Zea Maïs.

Cucurbita maxima (1re expérience).

Le 10 Octobre 1896, j'ai planté avec les précautions habituelles 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans Azote — 50cc

Chlorhydrate de Diphénylamine — 0g.50

Les graines germèrent rapidement, mais les radicules, dès leur

apparition hors des téguments subirent une véritable brûlure qui les détruisit entièrement.

2e Expérience

J'ai alors répété la même expérience en diminuant la quantité de Diphénylamine qui fut réduite à 0g. 20 seulement (de chlorhydrate). Cette nouvelle expérience a été faite le 17 Octobre. Dès la germination les racines subirent une brûlure comme dans l'expérience précédente.

3e Expérience

Le 24 Octobre j'ai disposé une nouvelle expérience en réduisant la dose de Chlorhydrate de Diphénylamine à 0g. 1.

Même échec

Zea Maïs

Le 24 Novembre 1896 j'ai fait sur des graines de Maïs une nouvelle expérience avec l'engrais précédent, mais en réduisant à 0g. 10 la dose de Chlorhydrate de Diphénylamine.

Les plantes germèrent difficilement et leur végétation prit un aspect souffreteux.

Le 22 Décembre j'ai arraché les plantes: leurs racines étaient presque entièrement brûlées.

Résumé. –

Même à faible dose, la diphénylamine se comporte vis-à-vis des plantes phanérogames, comme un violent toxique.

Aniline. –

J'ai employé l'aniline à l'état de sulfate. J'ai fait plusieurs expériences avec Cucurbita maxima et Zea Maïs.

Cucurbita maxima – 1re Expérience.

Le 10 Octobre 1896 j'ai planté, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote —— 50cc.
~~Sul~~fate d'aniline —— 0g. 50

Dès leur germination les radicules sorties des graines sont brûlées.

2e Expérience

Le 17 Octobre je refais une nouvelle expérience en réduisant la dose de sulfate d'aniline à 0g. 25.

Même échec que dans le cas précédent.

3e Expérience.

Le 24 Octobre je sème de nouveau 10 graines de Cucurbita en réduisant à 0g. 20 la dose de ~~sul~~fate d'aniline.

Les jeunes plantes se développent très médiocrement, et lorsque je les retirai du substratum je m'aperçus que les racines étaient presque totalement détruites.

Zea Maïs. – 1re Expérience.

En même temps que je plantais des graines de Cucurbita, le 10 Octobre 1896 j'ai planté 10 graines de Maïs dans un sol artificiel additionné de 0g. 50 de sulfate d'aniline.

Les radicules de ces graines furent brûlées au contact du sol dès leur germination.

2e Expérience.

Le 24 Novembre 1896 j'ai fait une nouvelle expérience en réduisant à 0g. 10 la quantité de sulfate d'aniline ajoutée au sol.

Le 22 Décembre j'ai arraché les plantes. Les racines étaient

encore brûlées, moins profondément que dans les cas précédents, il est vrai, mais suffisamment pour s'opposer d'une façon sérieuse au développement de la plante.

Résumé. –

Les sels d'aniline sont donc toxiques vis à vis de la plante de la même manière que ceux de Diphénylamine.

Je noterai cependant en passant que, à poids égal de produit, l'action des sels d'aniline a été beaucoup moins violente, sur les racines des plantes, que celle du sel de Diphénylamine.

Ce fait semblerait attribuer au radical phényl lui-même l'action funeste exercée sur la plante par les deux amines qu'il engendre.

Naphtylamine. –

J'ai employé la naphtylamine à l'état de chlorhydrate, et les expériences ont été poursuivies sur les deux plantes: Zea Maïs et Cucurbita maxima.

Zea Maïs.

Le 16 Octobre 1896 j'ai semé 10 graines de Maïs dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans Azote —— 50 cc.

Chlorhydrate de Naphtylamine pur – 0 g. 50

La germination s'est effectuée rapidement, mais dès leur apparition les radicules furent brûlées au contact de la naphtylamine, et les premières feuilles de la gemmule furent également détruites dès leur contact avec le sol de culture.

Cucurbita maxima – 1re Expérience

Le 10 Octobre 1895 j'ai planté, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cucurbita maxima dans un sol de même composition que celui de l'expérience précédente.

Dès leur germination, les radicules des jeunes plantes brunirent fortement au contact du sol, se recroquevillèrent et en très peu de jours (de 3 à 5 suivant les plantes) leur destruction s'accentua et l'altération s'étendit jusqu'aux cotylédons.

2e Expérience.

J'ai fait une nouvelle expérience en réduisant la dose de chlorhydrate de naphtylamine α à 0g. 25.

Même insuccès. Les plantes sont détruites par l'action du sel de naphtylamine.

3e Expérience.

La dose de chlorhydrate de naphtylamine est réduite à 0g. 20. Aussitôt après leur germination les plantes ont semblé vouloir se développer, mais elles dépérirent bientôt avec rapidité et l'examen montra que leurs racines étaient entièrement détruites.

4e Expérience.

La dose de chlorhydrate de naphtylamine est encore réduite. Le 24 Novembre 1895 je fais une nouvelle expérience avec 0g. 10 seulement de chlorhydrate de naphtylamine.

La germination s'est effectuée assez bien, mais le développement des plantes parut arrêté à ce stade. Le 22 Décembre j'ai prélevé des échantillons ; les racines étaient encore détruites.

Résumé. –

Même à faible dose, la naphtylamine se montre donc puissamment toxique vis-à-vis des plantes phanérogames dont elle détruit les tissus comme l'ont fait la diphénylamine et l'aniline.

Pyridine.

J'ai employé la pyridine à l'état de chlorhydrate que j'ai obtenu en saturant de la pyridine garantie pure et en soumettant le produit à plusieurs recristallisations dans le vide. Les expériences ont porté sur les deux plantes : Cucurbita maxima et Zea Maïs.

Cucurbita maxima

Le 7 Janvier 1897 j'ai semé, avec les précautions habituelles, 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans azote ——— 50 cc.
Chlorhydrate de pyridine ——— 0g.50.

La germination s'est effectuée d'une manière peu satisfaisante : 3 graines seulement ont germé. Les jeunes plantes auxquelles elles ont donné naissance se sont mal développées et dès le début de février elles étaient en plein dépérissement. Des torsions de leurs axes hypocotylés avaient amené de profondes cassures transversales de ces axes ; les cotylédons ne s'étaient pas ou à peine épanouis ; la racine principale, grêle et courte ne porte que quelques radicelles, maigres et crispées à leur extrémité. Au point de naissance de la racine, l'axe hypocotylé a éclaté latéralement et il forme de chaque côté une traîne qui s'applique en s'avançant latéralement sur le sol. Enfin toutes les plantes présentent sur leur surface de nombreuses taches couleur de rouille.

Zea Maïs

Le 7 Janvier 1897 j'ai semé également 10 graines de Maïs dans un sol présentant la même composition que le précédent. J'ai éprouvé le même échec qu'avec les Cucurbita maxima.

Résumé. –

La pyridine, elle aussi, est donc impropre à la nutrition azotée des végétaux phanérogames, dont elle ne peut, seule, être une source d'azote directement assimilable.

Alcaloïdes. –

Caféine. –

Le chlorhydrate de Caféine étant dissociable par l'eau, je me suis décidé à essayer l'emploi de la Caféine non salifiée; devant les mauvais résultats que m'ont donnés mes cultures j'ai préparé à l'état pur du chlorhydrate de Caféine avec lequel j'ai fait de nouvelles expériences.

Voici les détails de ces recherches qui ont porté sur des graines de Cucurbita Maxima et de Maïs.

1° Caféine non salifiée.

– Cucurbita maxima – 1re expérience.

Le 11 Octobre 1896 j'ai planté 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant.

Solution mère sans Azote ——— 50cc.
Caféine (Bax) - - - - - 0g.50

La germination s'est effectuée rapidement, mais les plantes dès leur apparition présentèrent des signes de dépérissement et moururent avec rapidité. A l'examen j'ai constaté une destruction importante des racines des divers échantillons.

2e Expérience.

Cette 2e expérience a été faite avec un substratum contenant 0g.25 seulement de Caféine (base).

J'ai éprouvé le même échec que dans la 1re expérience.

Zea Maïs.

Le 16 Octobre 1896 j'ai semé 10 graines de Maïs dans du sable additionné d'un engrais analogue à celui de la 1re expérience faite sur les Cucurbita, c'est-à-dire renfermant 0g.50 de Caféine basique par pot.

Le développement des plantes s'est effectué dans de mauvaises conditions, et en peu de temps toutes moururent après s'être très peu développées et avoir poussé des racines grêles qui ont été assez profondément brûlées au contact du substratum.

2° Caféine salifiée (Chlorhydrate)

Zea Maïs

Le 6 Janvier 1897 j'ai semé 10 graines de Maïs dans du sable additionné de l'engrais suivant:

Solution mère sans azote — — 50cc.
Chlorhydrate de Caféine — — — 0g.50

La germination s'est bien effectuée, mais les jeunes plantes semblèrent souffrir au bout de peu de temps, et elles ne tardèrent pas à donner des signes manifestes de dépérissement.

Le 1er Février j'ai recueilli 4 plantes ne présentant aucune altération des tissus et je les ai analysées.

— 1° — Poids sec des 4 plantes —— 377 mgr.

soit l'une $\frac{377}{4}$ = 94 mgr. 25

Perte par rapport au poids sec initial de la graine.

134.5 — 94.25 = 40 mgr. 25

Soit 30 % du poids initial de la graine sèche.

— 2° — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé —— 264 mgr.

Vol. d'Azote recueilli —— 6 cc. 1

$t = 13°$ Pression atm. = 760

D'où l'on tire :

$$p = \frac{6,1(760 - 11.3)}{760(1 + 0,00367 \times 13)} \times 0,001263 = 7 \text{ mgr. } 24$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 94 mgr 24 :

$$P = \frac{7.24 \times 94.24}{264} = 2 \text{ mgr. } 58.$$

Soit par rapport à l'Azote initial contenu dans la graine une **Perte** de 4.53 – 2.58 = 1 mg. 95

ou 43,04 %.

— L'essai du sol n'y a montré la présence d'aucun composé nitrique ou ammoniacal.

Résumé. —

La Caféine base s'est montrée toxique vis-à-vis des plantes phanérogames, dont elle détruit les tissus.

Quant au chlorhydrate de Caféine il s'est comporté comme un corps non assimilable, et il a donné lieu chez la plante à une perte d'azote analogue à celle déjà observée avec certaines amines.

Quinine. —

Le sel de Quinine employé a été le chlorhydrate et les expériences ont porté sur les deux graines de Cucurbita maxima et de Maïs.

Cucurbita maxima.

Le 11 Octobre 1895 j'ai planté, avec les précautions d'usage 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote —— 50cc
Chlorhydrate de Quinine —— 0g.50

Peu de temps après leur germination les plantes donnèrent des signes de dépérissement et en peu de jours elles moururent toutes.

Zea Maïs

Le 26 Novembre 1895 j'ai planté 10 graines de Maïs dans un substratum présentant la même composition que le précédent.

La végétation n'a pas été très brillante, néanmoins les plantes se maintinrent pendant assez longtemps sans trop dépérir.

Le 31 Décembre j'ai recueilli 4 plantes ne présentant extérieurement aucune trace d'altération et je les ai analysées.

— 1° — Poids des 4 plantes sèches —— 400 mgr.

Soit l'une $\frac{400}{4} = 100$ mgr.

Perte par rapport au poids sec primitif de la graine :

$134.5 - 100 = 34$ mgr 5.

— 2° — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé —— 151 mgr.
Vol. de l'Azote recueilli —— 4cc. 1
$t = 15°$ Pression atm. = 759 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{4.1\,(759 - 12.7)}{760\,(1 + 0{,}00367 \times 15)} \times 0{,}001263 = 4 \text{ mgr. } 81$$

Ceci fait pour une plante pesant sèche 100 mgr.

$$P = \frac{4.81 \times 100}{151} = 3 \text{ mgr. } 18$$

Perte par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine.

$4.53 - 3.18 = 1$ mg. 35

Soit 29.80 % de ce poids initial.

Résumé.

De même que la Caféine, la Quinine s'est conduite comme une source d'Azote non assimilable directement par la plante. Elle ne peut, dans les conditions ordinaires, servir à la nutrition azotée des végétaux phanérogames.

Cocaïne.

Les expériences ont été effectuées à l'aide de Chlorhydrate de cocaïne pur et ont porté sur des graines de Cucurbita maxima et de Zea Maïs.

Cucurbita maxima

Le 11 Octobre 1895 j'ai planté 10 graines de Cucurbita maxima dans un sol artificiel additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote —— 50cc.

Chlorhydrate de Cocaïne —— 0g.50

La germination s'est effectuée dans des conditions satisfaisantes, mais au bout de quelques jours les plantes donnèrent des signes de dépérissement et elles ne tardèrent pas à mourir.

Zea Maïs

Le 27 Novembre j'ai répété la même expérience avec 10 graines de Maïs qui furent disposés dans un substratum de même composition que le précédent.

Les plantes semblant souffrir, j'ai recueilli le 24 Décembre 6 plantes ne présentant extérieurement aucun signe d'altération des tissus et je les ai analysées.

— 1° — Poids sec des 6 plantes — 785 mgr.

Soit l'une $\frac{785}{6} = 131$ mgr.

Perte par rapport au poids sec d'une graine
$134.5 - 131 = 3 mgr. 5.$

— 2° — Dosage de l'Azote total —

Poids de substance prélevé —— 250 mgr.
Vol. d'Azote recueilli —— 6cc 2.
$t = 11°$ Pression atm. 764 m/m

D'où l'on tire :

$$p = \frac{6,2\,(764 - 9.77)}{760\,(1 + 0.00367 \times 11)} \times 0.001263 = 7\ mgr\ 47$$

Ce qui fait *pour une plante* pesant sèche 131 mgr. :

$$P = \frac{7,47 \times 131}{250} = 3\ mgr.\ 91$$

Perte par rapport à l'Azote initial contenu dans une graine.
$4,53 - 3.91 = 0\ mg\ 62$
Soit *13,68 %* de ce poids initial.

Résumé. —

La cocaïne se conduit donc aussi comme un composé azoté impropre à la nutrition des végétaux phanérogames, dans les conditions où elle n'a pu subir aucune transformation préalable.

Atropine. —

Les expériences effectuées avec du sulfate neutre d'atropine ont porté sur des graines de Cucurbita maxima et de Zea Maïs.

Cucurbita maxima.

Cette expérience a porté sur 10 graines qui ont été plantées le 11 Octobre 1896 dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote —— 500cc.
Sulfate neutre d'atropine —— 0g. 50

La germination s'est effectuée dans des conditions satisfaisantes, mais au bout de quelques jours les plantes semblèrent souffrir et dans un laps de temps relativement restreint elles périrent toutes.

Zea Maïs

Le 26 Novembre j'ai disposé 10 graines de Maïs dans un sol artificiel présentant la même composition que celui de l'expérience précédente.

Le 24 Décembre j'ai recueilli 6 plantes ne présentant extérieurement aucune altération et je les ai analysées.

— 1° — Poids sec des 6 plantes —— 725 mgr

Soit l'une $\frac{725}{6} = 121$ mgr.

Perte par rapport au poids primitif de la graine.

$134.5 - 121 = 13$ mg.5

— 2° — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé —— 240 mgr.

Vol. de l'Azote recueilli —— 5cc.8

$t = 17°$ Pression atm. 762 m/m.

D'où l'on tire

$$p = \frac{5,8(762 - 14.57)}{760(1+0,00367\times 17)} \times 0,001263 = 6 \text{ mgr } 78$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 121 mgr.

$$P = \frac{6.78\times 121}{240} = 3\text{mg}.418$$

Perte par rapport à l'Azote initial de la graine:

$4.53 - 3.418 = 1$mgr112

Soit 24.54 % de ce poids.

Résumé. ~

De même que les autres alcaloïdes étudiés jusqu'ici, l'atropine ne peut servir directement comme source d'Azote assimilable pour les végétaux phanérogames.

Morphine.

Les expériences ont été faites avec du Chlorhydrate de Morphine pur et ont porté sur des graines de Cucurbita maxima et de Zea Maïs.

Cucurbita maxima

Le 11 Octobre 1895 j'ai planté 10 graines de Cucurbita maxima dans du sable additionné de l'engrais suivant :

Solution mère sans Azote —— 50 cc.

Chlorhydrate de Morphine —— 0g.50

De même qu'avec les alcaloïdes précédemment étudiés, la germination s'est bien effectuée, mais après un temps assez court, les plantes semblèrent souffrir puis elles dépérirent rapidement.

Zea Maïs

Le 16 Octobre j'ai disposé cette nouvelle expérience avec 10 graines de Maïs plantées dans un sol composé comme le précédent.

Le 27 Novembre j'ai arraché les plantes et fait choix pour l'analyse de 3 d'entre elles qui ne présentaient aucune trace extérieure d'altération.

— 1°. — Poids sec des trois plantes : — 363 mgr.

Soit l'une $\frac{363}{3}$ = 121 mgr.

Perte par rapport au poids initial de la graine.

134.5 − 121 = 13 mgr.5

— 2°. — Dosage de l'Azote total. —

Poids de substance prélevé — 343 mgr.

Vol. d'Azote recueilli — 8 cc.7

t^o = 16°   Pression atm. = 719 m/m.

D'où l'on tire :

$$p = \frac{8.7(719 - 13.6)}{760(1 + 0.00367 \times 16)} \times 0{,}001263 = 10\,mg.\,197$$

Ce qui fait pour une plante pesant sèche 121 mgr.

$$P = \frac{10,187 \times 121}{343} = 3 \text{ mgr } 60$$

Perte par rapport à l'azote initial de la graine :

4.53 − 3,60 = 0 mgr 93

Soit 20.52 % de cet azote initial.

Résumé.–

Le chlorhydrate de morphine n'est donc pas non plus susceptible de servir seul comme source d'Azote pour la plante.

Remarques générales.–

On vient de voir, par ces diverses expériences, que les amines provenant de la substitution dans l'ammoniaque de son plusieurs hydrogènes par des radicaux à exposants peu élevés pouvaient parfaitement servir comme sources d'Azote directement assimilables par les végétaux, et cela sans avoir eu besoin de subir dans le sol de transformation en sels ammoniacaux ou en nitrates.

On a vu également que les phénylamines, naphtylamines, alcaloïdes végétaux non transformés en sels, etc. exerçaient sur la plante une action toxique plus ou moins puissante.

De plus on a constaté que, si l'on faisait végéter des plantes dans un sol renfermant tout son azote à l'état de sels d'alcaloïdes ou d'amines dont les radicaux substitués sont à exposant élevé, ces plantes éprouvaient une perte d'Azote.

Or l'opinion générale actuelle est que, pendant leur germination, même prolongée, les plantes ne perdent pas d'Azote ou n'en perdent que des quantités très faibles, si cette germination a lieu sans que le substratum contienne d'Azote assimilable.

Il existe cependant un certain nombre d'observations contraires :

C'est ainsi que Boussingault (1) a fait germer et végéter 10 graines de pois dans l'obscurité pendant plusieurs semaines, et il a constaté au bout de l'expérience que ses plantes contenaient 0g. 072 d'Azote total alors que les graines en renfermaient 0g. 094, soit une perte de 0g. 022.

Dans une autre expérience faite avec 46 grains de blé et un grain de Maïs il ne trouva aucune perte d'Azote, et il en déduisit que l'Azote perdu dans la 1re expérience tenait à une altération de ses pois.

D'autre part, dans la germination des Haricots, Schröder (2) et Karsten (3) ont également observé une perte d'Azote

Sachsse (4), en 184 heures, n'en a pas observé sur le Pois.

Detmer (5), Leclerc (6) et Loskowsky (7), opérant sur des plantes différentes arrivent au même résultat.

Boussingault (8), revenant sur ce sujet, suppose que la plante perd de l'Azote lorsqu'elle décompose des nitrates qui lui sont offerts pendant la végétation à l'obscurité, et qu'alors elle produit un dégagement d'Azote libre.

Frank (9), faisant pousser des plantes avec ou sans Azote, dans l'obscurité, constate de grandes pertes d'Azote. Il admet que cet azote disparaît à l'état gazeux, attribue ce phénomène à des putréfactions intimes, et conteste les hypothèses de Boussingault relatives à la décomposition des nitrates.

— Les résultats qui m'ont été donnés par les cultures faites dans des substratums contenant leur azote à l'état de sels d'amines dont

---

1. - Boussingault. — C.R. t. LVIII p. 881
2. - Schröder. — Landw. Versuchs-stat., Vol X, p 493.
3. - Karsten. — Landw. Versuchs-st., Vol. ~~XIII~~, p. 193.
4. - Sachsse. — Keimung von Pisum sativum. Leipzig, 1872. p. 22
5. - Detmer. — Physiologisch-Chemische Untersuch. über die Keimung, 1875. p. 27 et 63
6. - Leclerc. — C.R. t. LXXX. p 26
7. - Loskowsky. — Landw. Versuchs-stat., Vol XVII, p 219
8. - Boussingault. — Ann. de Ph. et Ch., série 5, t. XXII.
9. - Frank. — Landw. Jahrb. 1888 p. 421.

le radical substitué possède un exposant élevé, ou à l'état de sels d'alcaloïdes, viennent donc en confirmation des conclusions de Boussingault et de Frank, puisque l'observation finale a montré une perte d'Azote.

Il reste à préciser exactement les conditions de cette perte d'azote et à savoir sous quelle forme cet azote disparaît. J'ai entrepris des recherches dans ce sens, mais elles ne m'ont pas encore fourni de résultats concluants.

Chapitre II.

Nutrition des Algues.

Je me suis proposé dans cette deuxième partie d'appliquer aux Algues d'eau douce les recherches de nutrition entreprises sur les Phanérogames et de chercher si ces plantes pouvaient aussi puiser l'Azote dont elles ont besoin pour se développer dans les amines et les alcaloïdes.

Etant données les faibles quantités pondérales pouvant être obtenues par la culture de ces végétaux, ces expériences ne peuvent être que purement qualitatives et je devrai me borner à mentionner les succès et les insuccès sans chercher à établir les proportions d'Azote assimilées.

— La nutrition minérale normale des Algues d'eau douce a été étudiée tout récemment par Molisch (1), qui a établi la formule d'un milieu nutritif complet convenant au développement de ces plantes. Voici cette formule:

Eau distillée	1000	Sulfate de Chaux.	0,2
Azotate de potasse	0,2	Sulfate de fer	trace
Phosphate de potasse	0,2	Carbonate de Chaux	q.s.
Sulfate de magnésie	0,2	pour neutraliser.	

Je me suis inspiré des travaux de Molisch pour établir un liquide type de culture et ses diverses modifications. De plus, devant remplacer dans mes divers milieux de culture l'azote nitrique par de l'Azote organique et voulant que cet azote

1.– Molisch.– Die Ernährung der Algen (Süsswasseralgen) – Sitzungsber. der K. K. Akad. der Wissensch. in Wien, 1895 et 1896.

se trouve en quantités égales dans tous les milieux, j'ai calculé la quantité de chaque amine ou alcaloïde que j'introduirais à l'état de chlorhydrate dans chaque liquide pour lui conserver une teneur constante en Azote.

Comme l'emploi de chlorhydrates modifiait, par l'apport du Chlore, la formule de Molisch, j'ai ajouté au liquide type la quantité de chlorure de potassium dont le Chlore correspondait à celui introduit dans les autres liquides. Enfin j'ai ajouté à chacun de ces derniers liquides 0g. 20 de sulfate de potasse pour compenser partiellement la potasse que j'avais dû leur enlever en supprimant l'azotate de potasse.

Voici, du reste, résumées en tableau, les formules de ces divers liquides de culture:

Liquides à base de	Eau distillée	Azotate de potasse	Phosphate de potasse	Sulfate de Magnésie	Sulfate de Chaux	Sulfate de fer	Chlorhydrate de l'amine ou alcaloïde	Sulfate de potasse	Chlorure de potassium	Carbonate de Chaux
Type	1000	0,200	0,200	0,200	0,200	trace	0	0	0,372	q.s. pour neutraliser
Triméthylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,477	0,200	0	q.s. id
Diéthylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,547	0,200	0	q.s. id
Propylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,477	0,200	0	q.s. id
Isobutylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,547	0,200	0	q.s. id
Naphtylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,895	0,200	0	q.s. id
Diphénylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,926	0,200	0	q.s. id
Cocaïne	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	1,696	0,200	0	q.s. id
Quinine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,930	0,200	0	q.s. id
Morphine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	1,875	0,200	0	q.s. id
Amylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,617	0,200	0	q.s. id
Benzylamine	1000	0	0,200	0,200	0,200	trace	0,716	0,200	0	q.s. id

150 centimètres cubes de chacune de ces solutions sont introduits dans des fioles d'Erlenmeyer bouchées avec un tampon de coton et ces fioles sont ensuite stérilisées à l'autoclave à 120°.

Les précautions suivantes ont du reste été observées dans la préparation de ces liquides:

Les sels employés ont été préparés avec toutes les garanties de pureté désirables et soumis ensuite à plusieurs recristallisations dans l'alcool absolu afin d'être assuré d'une pureté absolument rigoureuse.

L'eau distillée a été redistillée avec le plus grand soin de façon que le produit final ne contienne aucune trace d'élément étranger.

— Ainsi préparés les flacons contenant les liquides de culture ont été ensemencés, avec toutes les précautions usitées en bactériologie, à l'aide d'un fil de platine préalablement flambé et portant une trace d'une culture pure des Algues à expérimenter.

— Les cultures d'Algues exigeant un temps relativement long pour leur complet développement (environ deux mois) je n'ai pu jusqu'ici faire que deux séries d'expériences, mais leurs résultats concordent parfaitement entre eux et aussi avec ceux qui ont été fournis par les cultures des Phanérogames.

1re Expérience.

Cette première expérience a été faite sur le Protococcus viridis.

Le 20 Février j'ai ensemencé une série de flacons préparés comme il est dit plus haut avec une trace de culture pure de Protococcus viridis. Les flacons sont ensuite abandonnés à la température ordinaire près d'une fenêtre.

Très rapidement (en 3 ou 4 jours) les Algues déposées comme semence dans les fioles contenant les liquides à base de Naphtylamine et de Diphénylamine sont mortes; celles des fioles contenant des liquides à base d'alcaloïdes ne tardent pas à périr également;

Au bout de 15 jours il est possible de noter un commencement manifeste de développement des Algues dans les autres fioles;

Seule la culture faite dans le milieu à base de Benzylamine semble barder, bien que les Algues formant semence fussent encore vertes.

Au bout d'un mois on peut apercevoir sur les parois de ces flacons et à la surface des liquides qu'ils renferment un notable développement d'Algues, qui commence également à se manifester dans le liquide à base de Benzylamine.

L'expérience est arrêtée au bout de deux mois avec une abondante végétation dans toutes ces fioles, c'est-à-dire celles contenant de la Diméthylamine, Diéthylamine, Propylamine, Butylamine, Amylamine, Benzylamine.

2ᵉ Expérience –

Mise en train le 24 Avril 1897 cette expérience est exécutée avec des filaments d'une Confervacée très commune, le Mesocarpus pleurocarpus. Les résultats fournis par cette expérience sont identiques à ceux de l'expérience précédente.

J'ai pu noter une mort rapide des filaments ensemencés dans les liquides à base de Naphtylamine, Diphénylamine, alcaloïdes; un développement tardif dans la Benzylamine, très luxuriant au contraire dans toutes les autres fioles.

Pourtant dans le liquide à base de Benzylamine, les filaments d'Algues finirent par se développer & finalement j'ai observé dans les liquides à base de Diméthylamine, Diéthylamine, Propylamine, Isobutylamine, Amylamine, Benzylamine, un tel développement d'Algues que certaines fioles étaient presque complètement remplies par leurs filaments.

Résumé. –

Ces expériences montrent donc que les Algues d'eau douce se comportent vis-à-vis des substances azotées organiques

(amines et alcaloïdes) de la même manière que les plantes phanérogames. Elles peuvent assimiler l'azote qui leur est présenté sous cette forme quand les composés azotés sont des amines dont le radical substitué est à exposant peu élevé.

Moins difficiles que les phanérogames, elles ont pu végéter en empruntant à la Benzylamine l'azote qui leur est nécessaire.

La Naphtylamine, la Diphénylamine sont puissamment toxiques et les alcaloïdes ne peuvent servir à leur nutrition azotée.

Chapitre III.

Nutrition des Champignons.

Les expériences de nutrition faites sur les champignons sont généralement intéressantes, d'abord parce que ces plantes poussent avec une telle rapidité que les causes d'erreurs extérieures sont notablement diminuées ; ensuite parce que le poids des spores apportées comme semence peut être considéré comme nul.

Il en résulte que les Champignons peuvent servir de moyen indirect d'analyse de la plus ou moins grande facilité avec laquelle les matériaux nutritifs sont assimilables. Il suffit pour cela de s'arranger de manière à préparer des milieux nutritifs de composition élémentaire constante et égale à celle d'un type déjà connu.

Les poids de Champignons obtenus à la fin de l'expérience seront entre eux dans les mêmes proportions que les pouvoirs nutritifs des milieux en présence.

Or on possède depuis les recherches de Raulin (1) un liquide type dans lequel on obtient le développement maximum d'une Mucédinée, l'Aspergillus niger. Ce liquide réussit également bien pour la culture d'une autre moisissure, le Penicillium glaucum.

Il était donc tout indiqué de prendre comme base de recherches le liquide de Raulin et d'opérer avec les deux Champignons susceptibles de s'y développer avec le maximum d'intensité.

Aussi ai-je calculé les formules de liquides nutritifs, modifications du liquide de Raulin, dans lesquels l'Azote

1. Raulin. — Ann. des Sc. naturelles (Bot.) 1869.

minéral et ammoniacal serait remplacé par de l'Azote sous forme de combinaisons aminées ou alcaloïdiques, ainsi qu'il a déjà été fait pour les Phanérogames et les Algues.

Les quantités de Chlorhydrates d'amines ou alcaloïdes introduits dans les divers liquides ont été calculées de telle sorte que l'Azote introduit fut en quantité constante et égale à celle du liquide type de Raulin.

Pour compenser le Chlore introduit sous forme d'acide chlorhydrique, j'ai ajouté au liquide type de Raulin une quantité de chlorure de potassium correspondant à cette quantité de Chlore.

Le potassium introduit ainsi dans le liquide de Raulin modifié a été compensé dans tous les autres liquides par addition de la quantité correspondante de tartrate neutre de potasse, et l'acide tartrique provenant de ce tartrate diminué sur la quantité d'acide tartrique libre introduit dans la formule primitive.

L'addition de sels d'amines ou d'alcaloïdes dans les divers milieux entraîne également l'apport dans ces milieux d'un excès de Carbone. Cet excès a été calculé et, après avoir été rapporté au sucre, diminué sur la quantité de cette substance existant dans la formule primitive.

De la sorte tous les liquides présentent, quant aux éléments nutritifs, une composition élémentaire rigoureusement la même.

Les résultats des expériences seront donc comparables entre eux, et des poids finaux des Champignons on pourra conclure au degré d'assimilabilité par ces végétaux des diverses amines ou alcaloïdes expérimentés.

Voici, résumés en tableau, les formules de ces différents liquides:

Substances entrant dans la formule ↓ / Liquides à base de →	Raulin modifié	Sans Azote	Monométhyl-amine	Diméthyl-amine	Triméthyl amine	Diéthyl-amine	Propyl-amine	Isobutyl-amine	Amyl-amine	Benzyl-amine	Allyl-amine	Naphtyl-amine	Diphényl-amine	Pyridine	Caféine	Cocaïne	Quinine	Morphine
Eau distillée	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
Sucre candi	70g:	70	66.80	63,69	60,28	57,18	60.28	57,18	65,50	64.19	60.367	37,93	31,53	56,00	63,59	15,49	37,95	15,52
Acide tartrique	8,45	8,45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tartrate neut. de potasse	0	0	13.76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13.76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76	13,76
Nitrate d'ammoniaque	4.50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phosphate de potasse	0,60	0,60	0.60	0,60	0.60	0,60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0,60	0.60	0.60	0,60
Carbonate de magnésie	0,40	0.40	0,40	0,40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0,40	0,40	0.40	0.40	0,40	0,40	0.40	0.40	0,40
Sulfate de potasse	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sulfate de zinc	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Sulfate de fer	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Silicate de potasse	0,07	0,07	0,07	0,07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0,07	0.07	0.07	0.07	0.07	0,07	0.07
Chlorhydrate de l'amine employée	0	0	7.60	9.025	10,75	12.32	10.75	12.32	13.90	16,14	10,535	20.20	23.12	13.014	6,48	38.20	20,95	42.24
Chlorure de potassium	8.40	8.40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Les expériences ont été faites de la manière suivante :

150 cc. de chacune de ces solutions sont introduits dans des cristallisoirs de forme large, de façon à ce que le liquide ne présente pas une épaisseur supérieure à 2 centimètres. Les cristallisoirs sont recouverts par une lame de verre.

Les spores des champignons, prélevées à l'aide d'une aiguille de platine flambée sont introduites dans les divers liquides, et les cultures sont disposées à l'étuve à 35°.

Lorsque le développement des champignons ne paraît plus faire de progrès et que leur sporulation est complète dans le liquide type, l'expérience est arrêtée.

Le contenu des cristallisoirs est versé sur des filtres tarés, lavés au préalable à l'eau distillée. Lorsque tout le liquide est écoulé, on lave le champignon resté sur le filtre avec de l'eau distillée; finalement, on sèche les filtres à l'étuve et on les pèse.

Voici les résultats des expériences :

Aspergillus niger.–

Le 12 Novembre 1896 j'ai disposé une série de cristallisoirs contenant des liquides nutritifs préparés comme l'indique le tableau précédent, et je les ai ensemencés avec quelques spores d'Aspergillus niger.

Le développement des Champignons s'est effectué avec régularité, et le 23 Novembre (11 jours après) j'ai mis fin à l'expérience.

Les champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, ~~[illegible]~~ lavés, séchés et pesés.

J'ai obtenu les poids suivants, qui sont comparés au poids obtenus avec le liquide type sans azote :

Liquides à base de :	Poids de Cr. recueilli : (en grammes)	Gain sur liq. sans Az : (en grammes)	Perte sur liq. sans Az : (en grammes)
Sans Azote	0, 040	"	"
Raulin modifié	5, 505	5, 465	"
Monométhylamine	4, 733	4. 693	"
Diméthylamine	4. 213	4. 173	"
Triméthylamine	2. 585	2. 545	"
Diéthylamine	2. 790	2. 750	"
Propylamine	3. 453	3, 413	"
Isobutylamine	2, 118	2, 078	"
Amylamine	3, 233	3. 193	"
Allylamine	2, 282	2, 242	"
Benzylamine	0, 137	0, 097	"
Naphtylamine	0	0	0, 040
Diphénylamine	0	0	0, 040
Pyridine	0, 027	"	0, 013
Caféine	0, 042	0, 002	"
Quinine	0, 030	"	0, 010
Cocaïne	0, 015	"	0, 025
Morphine	0, 003	"	0, 037

J'ai ensuite essayé les liquides de culture au point de vue de la fermentation ammoniacale par le réactif de Nessler. Quelques-uns de ces liquides ont donné un très léger précipité rouge brique par le réactif, indice de la présence de sels ammoniacaux, mais ce fait est loin d'être constant, et la plupart des liquides ne l'ont pas donné.

Cette légère fermentation doit être évidemment attribuée à ce que certains champignons qui s'étaient développés avec rapidité avaient subi, à la fin de l'expérience, une légère altération de quelques filaments à la suite de l'épuisement du milieu nutritif.

— Plusieurs autres séries de cultures, faites avec les mêmes liquides, stérilisés ou non au préalable, ont donné des résultats absolument du même ordre. Je les mentionne donc seulement pour mémoire.

Penicillium glaucum. —

Le 24 Novembre 1895 j'ai préparé une nouvelle série de liquides nutritifs que j'ai ensemencés avec des spores de Penicillium glaucum. L'expérience a pris fin le 9 Décembre (15 jours après) — Voici les poids de Champignons obtenus:

Liquides à base de:	Poids de Champ. obtenus: (en grammes)	Gain sur liq. sans Az: (en grammes)	Perte sur liq: sans Az: (en grammes)
Sans Azote	0,030	"	"
Monométhylamine	3,658	3,628	"
Diméthylamine	3,099	3,069	"
Triméthylamine	2,750	2,720	"
Diéthylamine	2,088	2,058	"
Propylamine	2,963	2,933	"
Isobutylamine	1,810	1,780	"
Amylamine	2,678	2,648	"
Benzylamine	0	"	0,030
Naphtylamine	0	"	0,030
Diphénylamine	0	"	0,030
Pyridine	0,013	"	0,017
Caféine	0,045	0,015	"
Cocaïne	0,010	"	0,020
Quinine	0,030	0	0
Morphine	0,002	"	0,028.

Remarques générales.—

Si l'on compare maintenant entre eux les résultats de ces expériences, on voit qu'ils sont de même ordre.

De même que les Phanérogames et les Algues, les Champignons peuvent puiser l'Azote qui leur est nécessaire dans des combinaisons azotées organiques de l'ordre des amines, pourvu toutefois que le radical substitué à l'hydrogène, dans ces composés, ne possède pas des exposants trop élevés.

La naphtylamine et la Diphénylamine n'ont permis aucun développement de Champignons dans les liquides qui renfermaient leur azote à cet état.

La Benzylamine s'est montrée un aliment très médiocre; quant aux alcaloïdes ils n'ont pas non plus donné de bons résultats.

Si maintenant on compare entre eux les poids de Champignons obtenus avec les divers milieux et qu'on les rapproche de la composition chimique des sels azotés mis en présence, on pourra constater les faits suivants:

Plus la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène dans les amines est élevée, moins le rendement en champignons est important.

Si l'on compare entre eux les poids de Champignons obtenus dans des liquides renfermant des amines provenant de la substitution du même radical à 1, 2 ou 3 H, par exemple ~~avec~~ les trois méthylamines, on verra que toujours c'est l'amine qui n'a qu'un H de substitué par le radical qui donne le plus fort rendement; vient ensuite le liquide contenant l'amine à deux radicaux substitués, et en dernier lieu celui contenant l'amine à trois radicaux substitués.

Enfin, si l'on rapproche l'un de l'autre les résultats obtenus

avec des liquides renfermant des amines dont la formule brute est la même, mais provenant de la substitution à l'hydrogène l'une de un radical seulement, l'autre de plusieurs radicaux de grandeur moléculaire moins élevée, par exemple la propylamine et la triméthylamine, c'est le liquide renfermant l'amine à un seul radical substitué qui donnera le plus fort rendement.

Ces différents résultats définissent donc d'une manière absolue le pouvoir nutritif des amines vis-à-vis des Champignons.

Il est malheureusement à peu près impossible de les appliquer aux autres plantes, car les besoins d'Azote de celles-ci sont beaucoup trop inférieurs à ceux des Champignons et par suite laissent trop de prise aux causes d'erreurs.

Chapitre IV.

Rôle exact joué vis-à-vis des végétaux par les amines qui ne peuvent servir seules à leur nutrition et par les alcaloïdes. –

Expériences préliminaires.

Les recherches exposées dans le Chapitre précédent ont montré que certaines amines, naphtylamine, Diphénylamine, pyridine, etc., et les alcaloïdes, placés seuls comme aliments azotés dans une solution nutritive ne contenant d'azote sous aucune autre forme, ne pouvaient servir comme source d'azote assimilable pour les végétaux.

Je me suis proposé dans les expériences qui vont suivre de chercher exactement comment se comportaient ces substances vis-à-vis des végétaux et de préciser leur mode d'action : sont-elles toxiques, simplement inassimilables, ou bien peut-on les faire absorber par la plante à l'aide de certains artifices?

Les Champignons m'ont paru tout indiqués pour ces recherches : la rapidité de leur croissance, le poids initial de la semence, qui peut être considéré comme nul, enfin leurs besoins considérables d'azote, permettent d'apporter dans l'étude de cette question une précision des plus difficiles à atteindre avec toute autre plante.

Pour savoir si les amines dont il s'agit ici et les alcaloïdes sont toxiques, il suffisait d'une expérience très simple:

Dans des liquides nutritifs, composés suivant une formule donnée, celle de Raulin par exemple, on introduit une certaine quantité des sels d'amines ou d'alcaloïdes à étudier, on y

sème quelques spores d'un Champignon ; les solutions sont mises à l'étuve et on suit la marche de la végétation.

J'ai donc préparé la série suivante de milieux :

1° Liquide de Raulin type (terme de comparaison) 150cc.
2° ——— id ——— + chlorhydrate de morphine 0g. 50
3° ——— id ——— + chlorhydrate de cocaïne 0g. 50
4° ——— id ——— + chlorhydrate de quinine 0g 50
5° ——— id ——— + chlorhydrate de Diphénylamine 0g. 10
6° ——— id ——— + chlorhydrate de Naphtylamine 0g. 10
7° ——— id ——— + chlorhydrate de pyridine 0g. 50

Le 27 Janvier 1897 j'ai disposé dans chacun de ces liquides quelques spores d'<u>Aspergillus niger</u> et je les ai placés à l'étuve à 35°. L'expérience a été arrêtée le 10 Février.

Le contenu des divers cristallisoirs a été jeté sur des filtres tarés ; les Champignons restés sur les filtres ont été lavés à l'eau distillée, puis séchés et pesés.

Un accident arrivé pendant le lavage des Champignons m'a empêché d'avoir la quantité exacte de Champignons poussé dans le liquide à base de pyridine, dans lequel cependant j'avais obtenu un beau développement de l'Aspergillus.

Voici les poids d'Aspergillus recueillis dans les autres cultures :

Liquides.	Poids de Champignon,	Gain sur le type	Perte sur le type.
Raulin, <u>type</u>.	1g. 375	"	"
Raulin + morphine	1. 580	0 g. 205	"
Raulin + cocaïne	2. 170	0. 795	"
Raulin + quinine	1,598	0, 243	"
Raulin + Diphénylamine	0	"	1.375
Raulin + Naphtylamine	0	"	1.375

Ces expériences montrent que la Naphtylamine et la Diphénylamine sont réellement toxiques pour l'Aspergillus, puisqu'elles ont arrêté son développement dans un liquide de Raulin normal.

D'autre part la pyridine et les alcaloïdes, lorsqu'ils étaient ajoutés à un milieu nutritif comme seule source d'azote, n'ont donné lieu à aucun développement de Champignon. Mais, ajoutés supplémentairement à un liquide nutritif complet, ils n'ont pas arrêté ce développement. Ce résultat est la preuve de leur non toxicité vis-à-vis de l'Aspergillus; et si, dans les expériences primitives, alors qu'ils étaient la seule source d'Azote du milieu, le Champignon ne s'est pas développé, c'est simplement parce qu'il n'a pu, par ses propres moyens, détruire la molécule des composés azotés et s'emparer de leur azote.

Si maintenant on rapproche les poids de champignons obtenus dans l'expérience qui précède de ceux obtenus avec le liquide de Raulin type, on voit que ces poids sont tous plus élevés que celui fourni par le milieu type.

Ceci permettrait de supposer que si les alcaloïdes employés seuls ne peuvent céder leur azote à la plante, ils pourraient bien être assimilés en présence d'Azote minéral. Ce dernier agirait alors par lui même, comme aliment directement assimilable, et ensuite comme moyen d'entrainement vis-à-vis de l'Azote organique, inassimilable lorsqu'il était seul.

D'autres expériences plus précises vont permettre de contrôler cette hypothèse.

Expériences définitives.

Ces expériences ont été faites en deux séries distinctes, l'une portant uniquement sur les amines (Diphénylamine, Naphtylamine); l'autre sur les alcaloïdes.

I. – Amines.

Ces expériences ont porté sur la Diphénylamine, la Naphtylamine et la Pyridine, qui s'étaient jusqu'ici montrés impropres à la nutrition azotée des Champignons.

Pour définir le rôle exact joué par ces substances vis-à-vis des Champignons, j'ai préparé du liquide de Raulin auquel j'ai ajouté des quantités déterminées de ces amines ainsi qu'il est indiqué ci-après :

Liquide 1. — Liquide de Raulin type 150cc
— 2. — — id — + chlorhydrate de Diphénylamine 0g. 20
— 3. — — id — + — id — 0g. 10
— 4. — — id — + Chlorhydr. de Naphtylamine 0g. 20
— 5. — — id — + — id — 0g. 10
— 6. — — id — + chlorhydr. de Pyridine 0g. 20

150 cc. de chacun de ces liquides ont été disposés dans des cristallisoirs fermés exactement par un disque de verre, et ils ont été stérilisés à l'autoclave à 120°.

Ils ont été ensuite ensemencés par quelques spores d'Aspergillus niger ; cette opération a été effectuée le 24 Avril 1897.

Les milieux ainsi préparés ont été placés dans une étuve à 35° et abandonnés jusqu'au 6 Mai.

Le contenu des cristallisoirs est alors jeté sur des filtres tarés ; les champignons restés sur les filtres ont été lavés avec soin à l'eau distillée, l'eau de lavage étant réunie au liquide de culture ; les champignons ont été alors séchés dans les filtres et pesés.

De leur côté les liquides de culture et de lavage ont été analysés pour y rechercher la quantité de substance azotée qu'ils contenaient encore.

Voici les quantités de Champignons obtenues :

Liquides	Poids de Champignon	Gain sur liq. type	Perte sur liq. type.
1. type	0g. 990	"	"
2. Diphényl. 0.20	0	"	0g. 990
3. — id — 0.10	0	"	0g. 990
4. Naphtyl 0,20	0	"	0g. 990
5. — id — 0,10	0g. 108	"	0g. 882
6. Pyridine 0.20	1g. 132	0g. 142	"

Ces résultats montrent nettement le rôle toxique joué vis à vis de l'Aspergillus par la Diphénylamine et la Naphtylamine, même employées à faible dose (0,07 %).

Quant à la Pyridine, elle a donné un poids de Champignon supérieur à celui donné par le liquide de Raulin type, employé dans les mêmes conditions de température, de dilution et de durée.

Il y avait donc lieu de supposer qu'une partie ou même la totalité du chlorhydrate de Pyridine avait été absorbée par le Champignon qui s'en serait servi pour augmenter sa masse.

Pour vérifier cette hypothèse il suffisait de doser dans le liquide de culture et les eaux de lavage la quantité de chlorhydrate de Pyridine restant en solution.

Le procédé de dosage le plus précis consistait à précipiter la Pyridine à l'état d'iodomercurate par l'iodure double de mercure et de potassium, puis à sécher et peser le précipité et à y doser l'Azote par la méthode de Dumas. Du poids d'Azote on déduit facilement la quantité de chlorhydrate de Pyridine restant dans la liqueur.

Malheureusement, il faut pour faire cet essai un poids d'iodomercurate relativement considérable, et en tout cas notable-

ment supérieur à celui que j'ai obtenu par la précipitation du liquide de culture. J'ai eu alors recours à l'artifice suivant :

J'ai pris 0g. 20 de chlorhydrate de pyridine (poids égal à celui mis en expérience), je les ai dissous dans 150 cmc. d'eau distillée (volume égal à celui mis en expérience), et je les ai précipités par l'iodure double de mercure et de potassium. Le précipité recueilli sur un filtre taré a été lavé, séché et pesé. Par comparaison du poids d'iodomercurate obtenu dans ces conditions avec celui obtenu par précipitation du liquide de culture, on peut déduire avec une approximation suffisante la quantité de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur, et par suite celle absorbée par le Champignon. Voici les résultats de ces expériences :

Poids d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20 de chlorhydr. de pyridine 0g. 932

—— id —— avec le liquide de culture .. 0g. 385.

Ceci correspond à $\frac{0.20 \times 0.385}{0.932}$ = 0g. 082 de chlorhydrate de pyridine restant dans la liqueur.

<u>Il y en a donc eu d'assimilé</u> :

$$0.20 - 0.082 = 0g.\ 118.$$

Donc, si la pyridine n'est pas assimilable directement, elle peut le devenir si dans le liquide de culture on ajoute de l'azotate d'ammoniaque. L'azote ainsi introduit agit pour son propre compte comme source d'azote directement assimilable, et ensuite il opère une sorte d'<u>entraînement</u> du chlorhydrate de pyridine qui peut alors être assimilé par le champignon, tandis que seul il ne pouvait l'être.

II. – Alcaloïdes. –

Les résultats obtenus dans les recherches préliminaires ont montré que, tandis que les alcaloïdes <u>seuls</u> ne pouvaient servir à la nutrition azotée des Champignons, lorsqu'on mettait en présence de ces composés de l'azotate d'ammoniaque, les Champignons s'y développaient avec vigueur.

A l'examen final, on a constaté que le poids de Champignons obtenu dans de tels milieux était supérieur à celui obtenu avec le liquide type de Raulin.

Rapprochant ces résultats de ceux obtenus avec le chlorhydrate de Pyridine, il était permis de se demander s'il n'y avait pas là des faits analogues à ceux que l'on a constatés avec ce sel.

J'ai donc fait avec les alcaloïdes plusieurs séries d'expériences du même ordre que celles faites avec les amines directement inassimilables, mais en prenant cette précaution de calculer les formules des milieux de telle sorte que l'azote apporté en supplément sous forme de sel d'alcaloïde soit constant pour tous les milieux.

Un liquide de Raulin type servira de terme de comparaison. Mais comme l'apport dans les liquides de culture de composés sous forme de Chlorhydrates y déterminait un excès de chlore par rapport au type, j'ai calculé la quantité de chlorure de potassium exactement correspondante, qui a été surajoutée au liquide de Raulin.

L'excès de potassium introduit sous cette forme dans le liquide type a été compensé dans les autres liquides par la quantité de carbonate de potasse strictement nécessaire.

Il se forme ainsi du tartrate de potasse, mais toutes les expériences antérieures ont montré que ce sel s'assimilait tout

aussi bien que l'acide tartrique.

Voici les formules de ces divers liquides:

A.– Liquide type. – Liquide de Raulin 150 cc. – Chlorure de potassium 0g.422

B.– Liquide à base de Morphine. – Liquide de Raulin 150 cc. – Carbonate de potasse 0g. 389. – Chlorhydrate de Morphine 2g. 182

C.– Liquide à base de Cocaïne. – Liquide de Raulin 150 cc. – Carbonate de potasse 0g. 389. – Chlorhydrate de Cocaïne 1g. 910

D.– Liquide à base de Quinine. – Liquide de Raulin 150 cc. – Carbonate de potasse 0g. 389 – Chlorhydrate de Quinine 1g. 010.

1re Série d'Expériences.–

Le 15 Février 1897, j'ai disposé dans des cristallisoirs fermés exactement par un disque de verre 150 cc. de chacun des liquides précédents et je les ai stérilisés à l'autoclave à 120°.

Je les ai ensuite ensemencés avec quelques spores d'une culture pure d'Aspergillus niger prélevées au moyen d'une aiguille de platine flambée. Les cultures ont été disposées à l'étuve à 35° et abandonnées à elles-mêmes jusqu'au 5 Mars.

Les Champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, lavés et séchés, puis pesés. Voici les poids obtenus:

Liquides:	Poids de Champignon	Gain sur le liq. type.
Liq. A (type)	1g. 145	"
– B. (morphine)	2g. 173	1g. 028
– C. (Cocaïne)	1g. 465	0g. 320
– D (Quinine)	2g. 935	1g. 790

Ces résultats sont de même ordre que ceux des expériences préliminaires: ils comportent dans tous les milieux ainsi composés

une augmentation de poids du Champignon par rapport à celui obtenu dans le liquide type.

2e Série d'Expériences.

Le 9 Mars 1897 j'ai fait dans des liquides de même composition une nouvelle série de cultures d'Aspergillus niger. Les liquides avaient été au préalable stérilisés à l'autoclave à 120°. Les cultures ont été abandonnées à l'étuve à 35° jusqu'au 25 Mars.

Les champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, puis lavés avec soin, séchés et pesés.

Les eaux de lavage ont été réunies aux liquides de culture, aux fins d'analyse, pour chercher s'il y avait eu assimilation des sels d'alcaloïdes.

Voici les poids de Champignons obtenus:

Liquides.	Poids de Champignons	Gain sur liq. type:
Liq. A (type)	0 g. 890	"
B (morphine)	2 g. 144	1 g. 254
C (Cocaïne)	1 g. 236	0 g. 346
D (Quinine)	2 g. 340	1 g. 450

Ces résultats sont absolument du même ordre que ceux de l'expérience précédente.

Ceci fait, j'ai analysé les liquides de culture de la même manière que j'avais fait pour le liquide à base de pyridine, pour y rechercher la quantité d'alcaloïde restant dans la solution.

Traités par l'iodure double de mercure et de potassium tous les milieux de culture à base d'alcaloïdes ont donné un précipité.

La précipité d'iodomercurate de morphine s'est effectué sous forme gélatineuse. Le précipité retenait par suite une certaine quantité de sel mercurique qui pourrait difficilement être enlevé par les lavages et risquerait de fausser les résultats.

Je me suis donc borné à faire les recherches sur les milieux de culture à base de cocaïne et de Quinine.

J'ai opéré par comparaison comme dans le cas de la pyridine.

0g. 20 de Chlorhydrate de Cocaïne et de Quinine ont été dissous respectivement dans une quantité d'eau distillée telle que la dilution du mélange soit sensiblement celle du liquide de culture. Ils ont été précipités par l'iodure double de mercure et de potassium ; les précipités, recueillis sur des filtres tarés, ont été lavés à l'eau distillée, séchés et pesés, et les poids obtenus comparés à ceux obtenus avec les liquides de culture.

I.– Cocaïne.–

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20
de chlorhydrate de cocaïne pur – – – – 0g. 598
Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec
le liquide de culture de l'Aspergillus – – – 1g. 852

Ce poids correspond à $\frac{0,20 \times 1.852}{0.598} = 0g. 619$ de Chlorhydrate de cocaïne restant dans la liqueur.

Il en a donc été absorbé par le Champignon :

$1.910 - 0,619 = 1g. 291$

II.– Quinine –

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20
de Chlorhydrate de Quinine pur – – – – 0g. 541
Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec
le liquide de culture de l'Aspergillus – – 0g. 900

Ce poids correspond à

$$\frac{0,20 \times 0,900}{0,541} = 0g. 332$$

de Chlorhydrate de Quinine restant dans la liqueur.
Il en a donc été absorbé par le Champignon:

1.050 – 0,332 = 0g. 718

3e Série d'Expériences.

Cette série d'expériences a porté sur les trois liquides: A (type), C (à base de cocaïne), D (à base de quinine).

Ces liquides, contenus dans des cristallisoirs fermés exactement par une lame de verre, ont été stérilisés à l'autoclave à 120° et ensemencés le 24 Avril 1897 à l'aide de quelques spores d'Aspergillus niger.

Les cultures ont été mises à l'étuve à 35° et l'expérience a pris fin le 6 Mai.

Les champignons ont été recueillis sur des filtres tarés, lavés à l'eau distillée, séchés & pesés. Les eaux de lavage ont été réunies aux liquides de cultures afin de les analyser.

Voici les poids de Champignons obtenus:

Liquides:	Poids de Champignon	Gain sur liquide type:
Liq. A (type)	1g. 145	"
– C (cocaïne)	1g. 486	0g. 341
– D (quinine)	2g. 027	0g. 882

Ces résultats sont encore du même ordre que les précédents.

Les liquides de culture, réunis aux eaux de lavage, ont été précipités au moyen de l'iodure double de mercure et de potassium, et les poids de précipités comparés à ceux produits par des poids donnés de chlorhydrates de cocaïne et de quinine, placés dans des conditions de dilution aussi semblables que possible à celles des liquides de culture.

I.— Cocaïne.—

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g. 20 de chlorhydrate de Cocaïne pur — — — — — 0g.598

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec le liquide de culture de l'Aspergillus — — — 2g. 840

Ce poids correspond à

$$\frac{0,20 \times 2.840}{0.598} = 0g.949$$

de Chlorhydrate de Cocaïne restant dans la liqueur.

Il en a donc été absorbé par le Champignon

$$1.910 - 0,949 = 0g.961$$

II.— Quinine.—

Poids du précipité d'iodomercurate obtenu avec 0g.20 de Chlorhydrate de quinine pur — — — — — 0g.541

Poids du précipité d'iodomercurat obtenu avec le liquide de culture de l'Aspergillus — — — 1g. 010

Ce poids correspond à

$$\frac{0,20 \times 1.010}{0.541} = 0g.373$$

de Chlorhydrate de quinine restant dans la liqueur.

Il en a donc été absorbé par le Champignon.

$$1.050 - 0,373 = 0g.677.$$

Résumé.—

Les expériences qui précèdent fournissent des résultats très importants:

La toxicité, même à très faible dose (0,07 %) des sels de Diphénylamine et de Naphtylamine est entièrement démontrée.

La Pyridine et les alcaloïdes que l'on a vus précédemment ne pouvoir suffire seuls à la nutrition azotée des végétaux ont pu être employés avec succès en présence d'azote

assimilable, et dans des conditions telles qu'aucun agent extérieur ne puisse intervenir.

Des expériences de dosages ont montré que l'assimilation de ces substances, réputées jusqu'ici inassimilables, était réelle.

C'est ainsi que dans un laps de temps de 16 jours, j'ai pu faire absorber à de l'Aspergillus niger 1gr. 291 de Chlorhydrate de Cocaïne et 0 g. 718 de Chlorhydrate de Quinine et que le résultat de cette absorption a été une augmentation de poids des Champignons, par rapport à un liquide de Raulin servant de type, de 0 g. 346 dans le 1er cas et 1 g. 450 dans le second, alors que dans le liquide type le poids avait été de 0 g. 890

Ces faits permettent d'envisager d'une façon nouvelle la question de l'assimilation de l'Azote organique et aussi le rôle des alcaloïdes dans les végétaux.

De plus, la comparaison des poids de Champignons obtenus avec les divers alcaloïdes employés montre que la grandeur moléculaire de l'alcaloïde joue le même rôle qu'elle a joué dans le cas des substances directement assimilables. Plus cette grandeur moléculaire est élevée, moins on obtient de Champignon.

Conclusions.

Les expériences qui viennent d'être rapportées dans les chapitres précédents mettent en lumière les faits suivants:

On admettait jusqu'ici que certains organismes: bactéries ou algues, pouvaient, soit seuls, soit vivant en symbiose entre eux ou avec certaines plantes, telles que les Légumineuses, fixer directement l'azote atmosphérique.

Les autres plantes devaient puiser leur azote dans le sol, mais ne pouvaient l'assimiler que s'il était sous forme d'azote nitrique ou ammoniacal (M. Müntz)

Les résultats expérimentaux que j'ai signalés plus haut montrent que, placées dans des conditions d'asepsie rigoureuses, et de telle sorte que les agents extérieurs ne puissent exercer aucune action, soit fermentescible, soit fixatrice d'azote libre, les plantes phanérogames peuvent emprunter l'azote qui leur est nécessaire à des composés organiques appartenant à la classe des amines, employés sous forme de sels. L'assimilation de ces substances peut avoir lieu sans que leur azote ait subi au préalable une transformation en azote nitrique ou ammoniacal.

Cette assimilation est en outre subordonnée à cette condition que les amines proviennent de la substitution à l'hydrogène de radicaux dont la grandeur moléculaire ne soit pas trop élevée: c'est ainsi que les méthylamines, par exemple, ont été d'excellentes sources d'azote assimilable, tandis que la Benzylamine et la Pyridine se sont montrées insuffisantes; la naphtylamine, la diphénylamine et l'aniline ont agi comme des toxiques puissants.

Les alcaloïdes, employés seuls comme source d'azote, n'ont

pu fournir à la plante l'azote qui lui est nécessaire.

On a pu également constater que, placées dans un milieu nutritif contenant de l'azote sous forme d'une combinaison aminée ou alcaloïdique inassimilable, les plantes ont perdu une quantité notable de leur azote initial.

Cette observation, répétée un assez grand nombre de fois, vient en confirmation des recherches de Boussingault, Schröder, Karsten et Frank qui, plaçant certaines plantes dans des conditions d'inanition, avaient obtenu des pertes d'azote sensibles, contrairement à l'opinion généralement admise.

Les expériences que j'ai entreprises ne m'ont pas permis jusqu'ici de savoir sous quelle forme disparaît l'azote ainsi perdu, mais j'espère pouvoir bientôt combler cette lacune.

—— Les Algues, placées dans des conditions de culture rigoureusement aseptiques, ont donné les mêmes résultats que les Phanérogames.

Elles ont assimilé dans d'excellentes conditions l'azote provenant d'amines dans lesquelles la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène n'est pas trop élevée.

Moins difficiles que les Phanérogames, elles ont pu végéter dans la Benzylamine, quoique plus difficilement au début que dans les autres milieux.

Dans tous les cas la transformation préalable de l'azote organique en azote nitrique ou ammoniacal n'a pas eu lieu et par suite peut être considérée comme inutile.

La naphtylamine et la diphénylamine se sont montrées douées d'une grande toxicité vis à vis des Algues, comme cela avait déjà eu lieu avec les Phanérogames.

Les alcaloïdes, employés seuls comme source d'azote, sont impropres à la nutrition des Algues.

— Les expériences relatives à la nutrition des Champignons à l'aide des amines et alcaloïdes ont fourni des résultats plus précis encore que ceux obtenus avec les Phanérogames et les Algues. Les milieux nutritifs ayant été préparés de façon à avoir une composition élémentaire rigoureusement égale, quelle que soit la source d'Azote employée, il a été possible de mesurer en quelque sorte le degré d'assimilabilité des diverses amines employées.

De même que les Phanérogames, les Champignons ont assimilé directement l'Azote provenant des amines les moins élevées en grandeur moléculaire, avec autant de facilité que s'il s'était agi d'azote nitrique ou ammoniacal.

La naphtylamine et la Diphénylamine n'ont donné lieu à aucun développement, de même que les alcaloïdes.

On a pu également constater que le poids de Champignons obtenu finalement était d'autant plus élevé que la grandeur moléculaire du radical substitué à l'hydrogène l'était moins.

De plusieurs amines provenant de la substitution du même radical à 1, 2 ou 3 H (par exemple les trois méthylamines), employées en quantités telles que le poids d'azote introduit dans les liquides nutritifs soit égal pour toutes ces amines, les autres éléments restant également constants, c'est l'amine provenant de la substitution de un seul radical qui donne le plus fort rendement. Celle à deux radicaux substitués vient ensuite, et celle à trois radicaux donne la quantité de Champignons la plus faible.

Enfin, de deux amines possédant la même formule brute, mais provenant de la substitution à l'hydrogène l'une d'un seul radical, l'autre de plusieurs radicaux de grandeur moléculaire moindre (exemple: propylamine et triméthyl-

amine) c'est l'amine provenant de la substitution de un radical seulement qui donne le plus fort rendement.

— Des expériences ultérieures ont montré que la naphtylamine et la diphénylamine sont puissamment toxiques, même à dose très faible (0.07 %).

— D'autre part la pyridine et les alcaloïdes, employés seuls comme source d'azote n'avaient pu servir à la nutrition des Champignons. Il n'en est plus de même si on les ajoute à un milieu nutritif contenant de l'azote directement assimilable.

Celui-ci agit alors comme agent d'entraînement, et on peut arriver à faire absorber aux Champignons des doses considérables de ces produits (jusqu'à 1g. 291 de Chlorhydrate de cocaïne et 0g. 718 de chlorhydrate de Quinine en 16 jours et par 150 cc. de liquide nutritif de Raulin). Cette absorption d'alcaloïdes s'est traduite par une notable augmentation du poids de Champignons recueilli (quelquefois plus du double)

En outre, des recherches du même ordre, faites avec des liquides nutritifs de composition élémentaire égale, quelle que soit la source d'Azote employée, ont montré que les mêmes règles qui gouvernent l'assimilation des amines gouvernent aussi celle des alcaloïdes : plus la grandeur moléculaire de l'alcaloïde est élevée, moins il est assimilable.

— Dans un autre ordre d'idées, les résultats d'assimilation obtenus avec les amines constituent un appoint nouveau à l'étude des engrais et en particulier des fumiers. On sait que les premiers phénomènes de fermentation des fumiers s'accompagnent de productions importantes d'amines. Il en est de même des marcs de betterave et

de fruits, fréquemment employés comme engrais, et aussi des masses énormes de mollusques ou de poissons de mer répandus, en guise de fumure, dans les champs des régions côtières.

On supposait que l'azote organique résultant de leur putréfaction, avant d'être assimilé par les plantes, devait être transformé, d'abord en sels ammoniacaux, puis en nitrates par les ferments du sol.

Les expériences faites sur les trois classes de plantes: Phanérogames, Algues, Champignons, montrent qu'une telle succession de transformations est parfaitement inutile, puisque la plante est capable d'assimiler les amines inférieures tout aussi bien que les nitrates. Elles expliquent par suite la rapidité d'action des fumiers sur la végétation.

— De leur côté, les résultats d'assimilation obtenus avec les alcaloïdes permettent de revenir sur la question du rôle des alcaloïdes dans les végétaux.

Rigoureusement inassimilables seuls, les alcaloïdes ont pu être largement absorbés en présence d'azote directement assimilable. C'est probablement dans cette voie qu'il faudra chercher la cause des migrations et de la disparition des alcaloïdes dans le corps de la plante à certaines époques de sa végétation.

Il est malheureusement regrettable que les besoins d'azote des végétaux phanérogames, très faibles par rapport à ceux des Champignons, ne permettent qu'avec les plus grandes difficultés de faire sur eux de semblables recherches avec toutes les garanties de précision nécessaires.

Mais, comme on a retrouvé dans toute la série végétale la même manière de se comporter des plantes vis-à-vis des amines et des alcaloïdes, un rapprochement

des Phanérogames et des Champignons, sous le rapport de l'assimilation des alcaloïdes, peut être envisagé comme possible, et il semble y avoir de sérieuses probabilités en faveur de cette hypothèse.

